



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی قزوین

دانشکده پزشکی

پایان نامه جهت اخذ درجه دکترای عمومی

عنوان

بررسی یادگیری و حافظه فضایی در موش های صحرایی که در دوران جنینی استرس ترکیبی دریافت کرده اند

استاد راهنما

جناب آقای دکتر محمد صوفی آبادی

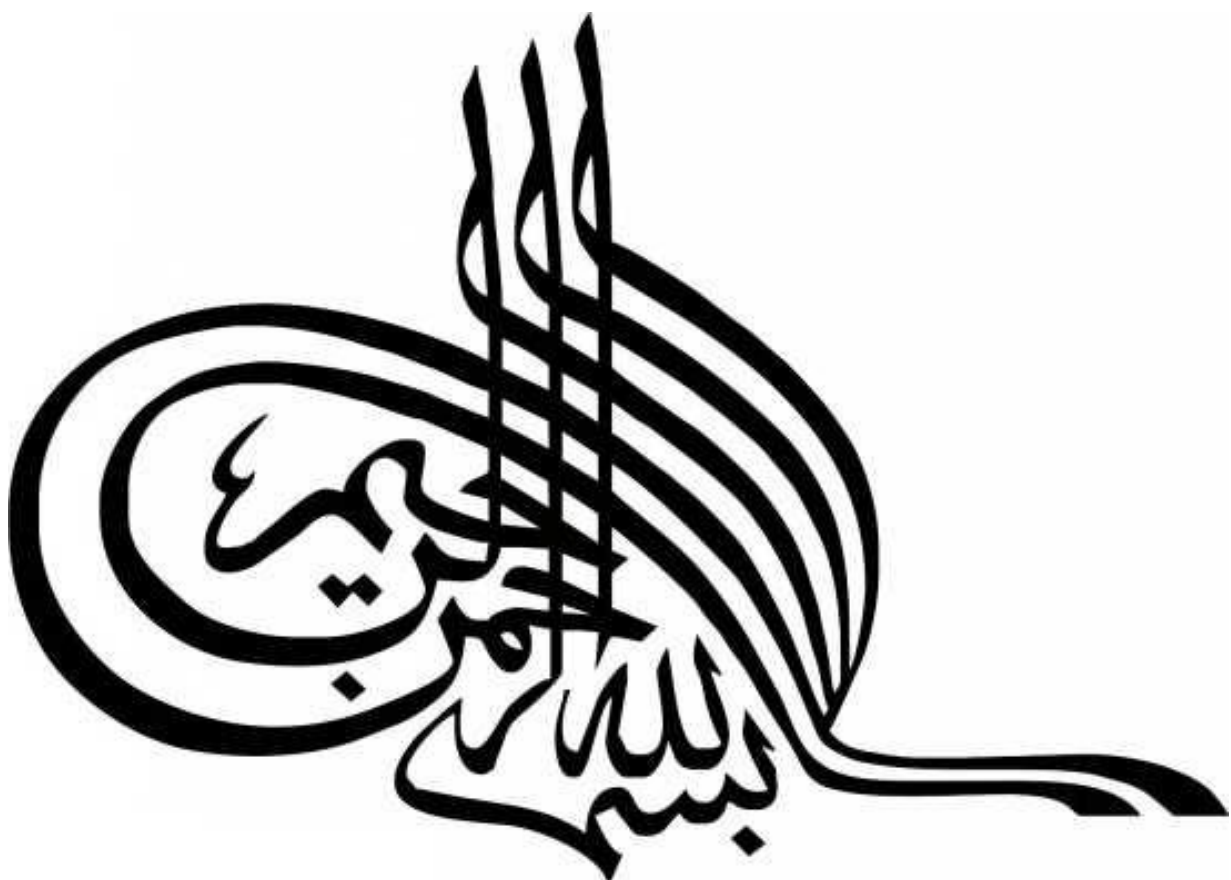
استاد مشاور

جناب آقای دکتر هاشم حق دوست یزدی

نگارش

سیده یگانه قائمی

فروردین ۱۳۹۸



شکر شایان نثار ایزد منان که توفیق را رفیق راهم ساخت تا این پایان نامه را به پایان برسانم .

این پایان نامه را ضمن تشکر و سپاس بیکران و در کمال افتخار و امتنان تقدیم می نمایم به

محضر ارزشمند پدر و مادر عزیزم به خاطر همه ی تلاشهای محبت آمیز ی که در دوران مختلف زندگی ام انجام داده اند و بامهربانی چگونه زیستن را به من آموخته اند.

از استاد ارجمندم جناب آقای دکتر محمد صوفی آبادی به عنوان استاد راهنما که همواره نگارنده را مورد لطف و محبت خود قرار داده اند، کمال تشکر را دارم.

از استاد گرامیم دکتر هاشم حق دوست یزدی بسیار سپاسگزارم چرا که بدون رهنمودهای ایشان انجام این کار بسیار مشکل می نمود.

چکیده:

عنوان: بررسی یادگیری و حافظه فضایی در موش های صحرایی که در دوران جنینی استرس ترکیبی دریافت کرده اند

زمینه و هدف: شواهد متعدد نشان می دهد که مواجهه با استرس های محیطی مختلف در دوران جنینی بر رفتارهای فیزیولوژیک در زمان بلوغ و بعد از آن مؤثر است. دراین مطالعه تجربی تأثیر استرس ترکیبی شامل میدان الکترومغناطیس، تراحم و بی حرکتی در دوران جنینی بر میزان یادگیری و حافظه فضایی موش صحرایی نر بالغ تولد یافته مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها: در این پژوهش ۲ گروه از موش صحرایی ماده باردار از نژاد ویستار وارد مطالعه شدند: شامل گروه کنترل که دوره طبیعی بارداری را پشت سر گذاشتند و گروه تیمار که از روز هشتم تا هیجدهم بارداری ۳ استرس متفاوت بشرح ذیل دریافت کردند. قرارگیری در معرض امواج الکترو مغناطیسی (روزانه ۴ ساعت با شدت ۵,۰ میلی تسلا و فرکانس ۵۰ هرتز)، دریافت استرس بی حرکتی (روزی دوبار بمدت نیم ساعت در هر مرحله با قرار دادن در رستیرنر) و استرس تراحم (نگهداشته شدن بصورت ۶ موش دریک قفس کوچک). سپس میزان یادگیری و حافظه فضایی در فرزندان نر این حیوانات در ۲ ماه پس از تولد با استفاده از دستگاه مازابی مورس مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفت.

یافته ها: نتایج بدست آمده نشان داد که زمان رسیدن و مسافت پیدا کردن سکوی فرار در روز های نخست ازمون در نوزادان تولد یافته نر از مادرانی که در دوران حاملگی در معرض استرس ترکیبی قرار داشتند نسبت به گروه کنترل به صورت معنی داری افزایش یافت ($P < 0.05$). همچنین استرس ترکیبی درصد زمان طی شده در ناحیه هدف و درصد مسافت طی شده در ربع هدف را کاهش داد ولی تفاوت این تغییرات در بین دوگروه معنی دار نبود.

نتیجه گیری: برطبق این یافته ها استرس دوران جنینی موجب اختلال در یادگیری فضایی شده ولی بر حافظه فضایی موش ها اثری ندارد و احتمالاً ممکن است چنین اثر مشابهی هم در مورد انسان داشته باشد که نیاز به انجام مطالعات بیشتر در این زمینه است.

واژه های کلیدی: استرس ترکیبی، دوران جنینی، یادگیری و حافظه فضایی ، موش صحرایی.

فصل اول: مقدمه و بیان مساله	۶
۱- ۱ مقدمه بیان مساله	۷
۱-۲ مروری بر متون	۲۴
فصل دوم: روش پژوهش اهداف و فرضیات	۲۹
فصل سوم: مواد و روش ها	۳۱
فصل چهارم: یافته ها	۳۷
فصل پنجم: بحث، نتیجه گیری	۴۵
فهرست منابع:	۵۴

فصل اول

بیان مساله

و

بررسی متون

۱-۱ مقدمه و بیان مسئله:

۱-۱-۱. استرس و اثرات آن بر بدن

استرس عبارت است از مجموعه فنومن ها یا پدیده های بیولوژیکی غیر اختصاصی که بوسیله عوامل زیان آور خارجی ایجاد می شود^(۱). انواع مختلف عوامل استرس زا از جمله استرس های فیزیکی، شیمیایی، فیزیولوژیکی و روانی می توانند موجب بروز پاسخ های مختلف فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گردند^(۲). عوامل استرس زا می توانند شدید و کوتاه مدت (حاد^۱) و یا بصورت طولانی اما با شدت کمتر (مزمن^۲) ایجاد شوند، حیواناتی که در معرض استرس اجباری قرار گیرند علائمی نظیر اختلال در خواب و خوردن، زخم معده و کاهش ایمنی را نشان می دهند. این پدیده بیماری های قلبی و سایر بیماری ها را افزایش می دهد^(۳).

۱-۱-۲. مسیر های پاسخ به استرس در بدن

پاسخ به استرس با پردازش اطلاعات مربوط به محرک های خارجی در سیستم عصبی مرکزی شروع می شود. پاسخ اولیه به این محرک به گونه ای سازمان بندی میشود که بقای موجود زنده حفظ شود^(۴). این پاسخ های هماهنگ شده که بعنوان پاسخ استرسی شناخته شده اند شامل تغییرات رفتاری، عملکردی، اتونومیک و ترشح چندین هورمون است.

¹-Acute

²-Chronic

بطور خلاصه استرس دو مسیر ارتباطی بین مغز و محیط را از طریق مکانیسم های عصبی و آندوکرینی درگیر می کند. دو مسیر اصلی فیزیولوژیک در پاسخ به استرس فعال هستند: سیستم عصبی اتونوم (ANS) و محور هیپوتالاموسی - هیپوفیز-آدرنال (HPA). هر دو سیستم در جهت کنترل فیزیولوژیک رفتار و در پاسخ سریع به عوامل استرس زا درگیر هستند (۵).

استرسورها سبب فعال شدن ترکیبات اندوکراین می گردند که شامل افزایش ترشح اپی نفرین از سیستم عصبی سمپاتیکی و بخش مرکزی غده آدرنال و همچنین سبب آزاد سازی هورمون آزاد کننده کورتیکوتروپین (CRH) از هیپوتالاموس و ترشح وازوپرسین از نورون های هسته پاراونتریکولار در هیپوتالاموس به داخل گردش خون باب-هیپوتالاموس-هیپوفیز می شود. هورمون (CRH) در هیپوفیز قدامی منجر به ترشح و سنتز هورمون آدرنوکورتیکوتروپین (ACTH) می گردد. هورمون (ACTH) رها شده به خون به قشر آدرنال رسیده و ترشح انواعی از گلوکوکورتیکوئیدها از جمله کورتیزول در انسان و کورتیکوسترون در حیوانات را موجب می شود (۶). فیدبک گلوکوکورتیکوئید از راه گیرنده های گلوکوکورتیکوئید در سیستم لیمبیک و گیرنده های آن در PVN^۳ و هیپوفیز پیشین فعالیت محور HPA را کاهش می دهد (۷).

مطالعات فیزیولوژیک نشان داده اند که در شرایط پایه ترشح گلوکوکورتیکوئید بصورت پالسی و وابسته به سیکل شبانه روزی می باشد اما در شرایط استرس این الگو تغییر نموده و ترشح این هورمون ها افزایش می یابد. این

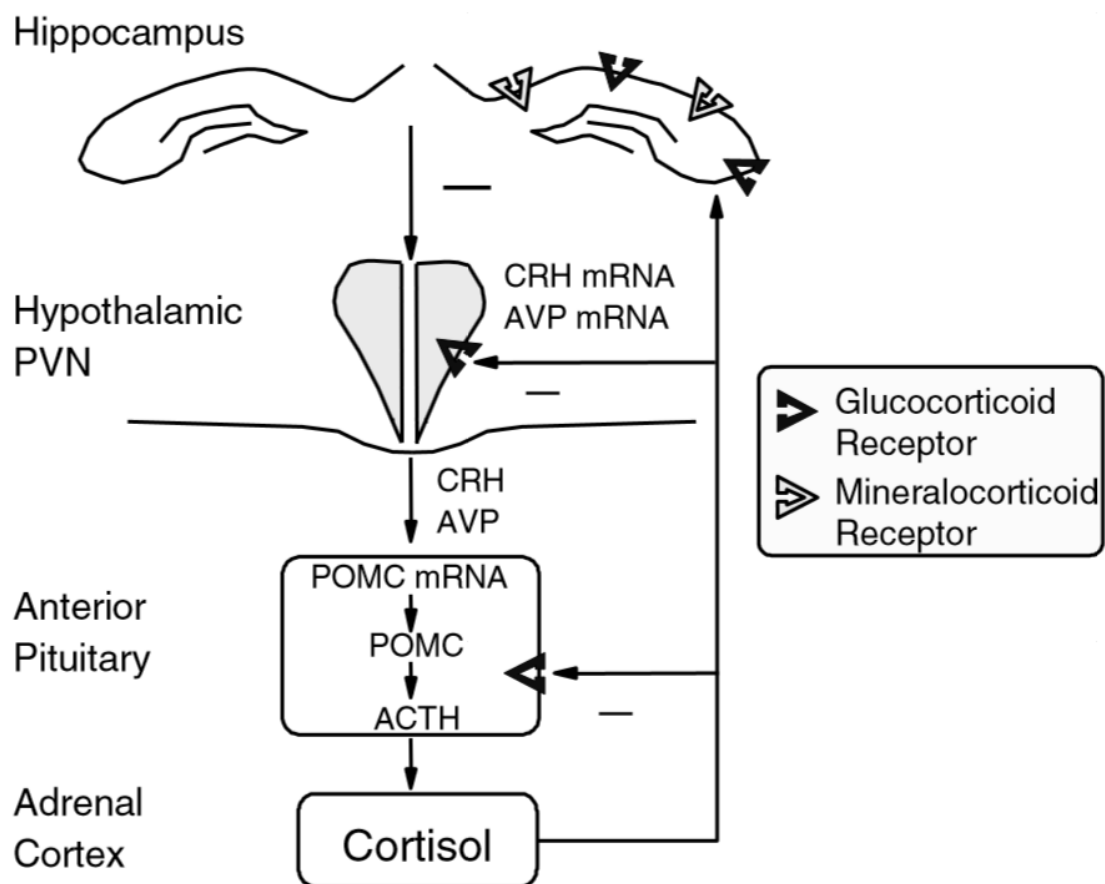
³-Paraventricular Nucleus

هورمون ها به دلیل لیپوفیل بودن قادرند که از سد خونی مغزی عبور نموده و بر عملکرد های عصبی و رفتاری

تاثیر بگذارند(۸). هورمون های آزاد کننده کورتیکوتروپین هماهنگ کننده پاسخ های ایمنی، رفتاری، اتونومیک و

آندوکرینی به استرس است و همچنین به عنوان یک نورومدولاتور و نوروترانسمیتر در آمیگدال، هسته

رافه، هیپوکامپ و لوکوس سرولئوس برای کامل کردن پاسخ های چند سیستمی به استرس عمل میکند(۹).



شکل ۱-۱: محور هیپوتالاموس - هیپوفیز - آدرنال (kapoor et al.2006).

بطور کلی پاسخ استرس شامل افزایش توجه به محیط اطراف، افزایش ضربان قلب، فشار خون و سرعت تنفس و نیز افزایش فرایند های متابولیک می باشد.

۳-۱-۱. تطابق در پاسخ به استرس

پروسه تطابق که پاسخ استرس را تحت پوشش قرار می دهد بطور کلی پاسخ آلوستاتیک نامگذاری شده است. مغز از طریق فعال کردن سلول های عصبی و آزاد کردن نوروترنسمیتر ها سبب آلوستازی^۴ به معنای کسب تعادل و ثبات داخلی میگردد. اگر پاسخ استرس نا مناسب، بیش از حد و یا طولانی مدت باشد بهای تطابق ممکن است بیش از حد زیاد شود و منجر به شرایطی به نام بار آلوستاتیک^۵ گردد. در مجموع محتوای بار آلوستاتیک به تغییراتی منجر می شود که باعث فرسودگی مغز و بدن میگردد مثال های فشار آلوستاتیک شامل تجمع چربی شکم، از دست دادن مواد معدنی استخوان و آتروفی سلول های عصبی در هیپوکامپ می باشد (۱۰).

۴-۱-۱. ساختار های مغزی مرتبط با استرس

مدار های عصبی منتشر در مغز مشخص می کنند که چه عواملی تهدید کننده و بالقوه استرس زا هستند و نیز پاسخ های فیزیولوژیک رفتاری تطابقی با عامل آسیب رسان را تنظیم می کنند. این مدار ها شامل سیستم لیمبیک به ویژه هیپوکامپ، آمیگدال و قشر پره فرونتال می باشند (۱۱ و ۱۲).

⁴-Allostasis

⁵-Allostatic load

۵-۱-۱. تاثیر استرس بر هیپوکامپ

استرس طولانی مدت باعث تغییر در ساختار و عملکرد مغز می شود در میان نواحی مختلف مغز، هیپوکامپ به میزان زیادی مستعد تغییرات ناشی از استرس می باشد. هیپوکامپ ساختاری در لب تمپورال میانی است که با حافظه توصیفی در ارتباط است (۱۳). این ناحیه یک ساختار دینامیک است و عوامل محیطی، رفتاری، آندوکرینی و فارماکولوژیک بر آن اثر می گذارند (۱۴). استرس و تجویز گلوکوکورتیکوئیدها، باعث بروز اختلال در پلاستیسیته این ساختار می شوند. هیپوکامپ عملکردهای نباتی و آوتونومیک را نیز تنظیم می کند و بر محور HPA اثر مهاری دارد (۱۵). استرس تغییرات فرا ساختاری در هیپوکامپ ایجاد می کند که شامل کاهش حجم سلول ها، تخریب و نامنظم شدن غشاء سلول، چروکیدگی غشاء هسته، کاهش تراکم شبکه آندوپلاسمیک، و زیکوله شدن میتوکندری و تخریب تیغه های میتوکندری می باشد (۱۶).

اختلال حافظه ناشی از هیپرتیروئیدی در حیوانی که در شرایط استرس مزمن باشد شدیدتر است. مطالعه انجام شده روی هیپوکامپ، کاهش سطح پروتئین های مسیر سیگنالینگ مرتبط با حافظه مانند CAM KII را در شرایط استرس زا نشان داده است (۱۷). در واقع هیپوکامپ اولین منطقه ای است که علاوه بر هیپوتالاموس به عنوان بافت هدف استرس و گلوکوکورتیکوئیدها شناخته شده است. هیپوکامپ غنی از رسپتورهای گلوکوکورتیکوئیدی و مدیاتورهای دیگر استرس است که می توانند پروسه های شناختی را افزایش دهند، بر خلق و انگیزه تاثیر گذارند و تحریک پذیری نورونی و حفاظت آنها تسریع کنند. همچنین این مدیاتورها می توانند

تحت شرایط استرس مزمن اثرات مخربی بر هیپوکامپ داشته باشند (۱۸). آسیب به هیپوکامپ از نوعی واکنش زنجیره ای یا حلقه بازتابی حاصل می شود. چرخه وقتی آغاز می شود که گلوکوکورتیکوئیدها از غدد فوق کلیه به خون آزاد می شوند. هیپوکامپ ظرفیت بالایی از گیرنده ها را برای گلوکوکورتیکوئیدها دارد و تحت شرایط نرمال تولید هورمون های استرس را تنظیم می کند. در نتیجه آسیب، هورمون های استرس در سطوح افزوده ترشح و منجر به آسیب بیشتر به هیپوکامپ می شود (۱۹). هیپوکامپ بطور آناتومیکی و عملکردی با آمیگدال مرتبط است (۲۰). همچنین سیستم لیمبیک با قسمت های دیگر مغز مثل هیپوتالاموس و قشر مغز به وسیله قشر پره فرونتال در ارتباط است. آمیگدال متشکل از هسته های مجزا است که در شناسایی و پاسخ به عوامل تهدید زا در محیط، همچنین در تشکیل خاطرات توأم با هیجانات نقش مهمی دارد (۲۱). کمپلکس هسته قاعده ای - جانبی آمیگدال با نواحی قشری و زیر قشری دخیل در پردازش اطلاعات مرتبط با استرس، هیپوکامپ و قشر پره فرونتال در ارتباط هستند. قشر پره فرونتال در عملکردهای شناختی عالی تر و در تنظیم پاسخ های مرتبط با استرس و مقابله با عملکرد مناطق ساب کورتیکال لیمبیک از جمله آمیگدال، هیپوکامپ و هیپوتالاموس نقش دارد (۲۲). تحت شرایط استرس زا فعالیت آمیگدال و دیگر نواحی ساب کورتیکال باعث بروز اختلال در تنظیمات پره فرونتال میشود. نشان داده شده است که در اثر استرس مزمن کمپلکس نوروئی و ارتباطات سیناپسی در پره فرونتال کاهش می یابد (۲۳).

بطور کلی سیستم لیمبیک در مغز در اعمال متنوع شناختی و عاطفی درگیر تنظیم تطابقی پاسخ به استرس نقش دارد و وقتی پاسخ به استرس با شکست مواجه میشود، این مناطق مغز شامل هیپوکامپ، آمیگدال و قشر پره فرونتال تغییرات بارزی را نشان می دهد (۲۴).

مطالعات جدید نشان میدهد میانسالان با سطوح زیاد کورتیزول در تست حافظه ضعیف عمل می کنند و قسمت هیپوکامپ مغز آنها کوچکتر است (۲۵). حتی استرس کوتاه مدت که تنها چند ساعت طول بکشد نیز می تواند به سلولهای مغزی در مناطقی که در یادگیری و حافظه نقش دارند آسیب بزند (۲۶). استرس و تنش عصبی سبب می شود که یکی از پروتئینهای مهم منطقه هیپوکامپ کاهش یابد، این پروتئین سیناپتوفیزین نام دارد. این پروتئین برای سنجش چگونگی ارتباط سلولهای مغزی با دیگر مناطق بکار میرود و هر قدر میزان این پروتئین کمتر باشد نشان دهنده کاهش فعالیت مغزی است و این کاهش در موشهای پیر بیشتر از موشهای جوان است (۲۷).

۶-۱-۱. اثرات استرس در دوران بارداری

تولد نوزادها و مهاجرت آنها به موقعیت مخصوص در مغز و تثبیت آنها و برقراری اتصالات سیناپسی به طور مشخص در دوران جنینی اتفاق می افتد. استرس های محیطی در طی حاملگی میتواند یک فشار زیاد بر تکامل مغز اعمال کند و بدین وسیله بطور چشمگیری در ایجاد بیماری های دوران بعدی زندگی موثر باشد. بعلت وجود ساختار جفت توسعه جنین در یک محیط مصون در بدن مادر صورت می گیرد. در واقع جفت علاوه بر اینکه

اتصال ساختمانی است یک اتصال شیمیایی نیز محسوب می شود که توسعه جنین را از هر خطری که ممکن است در محیط مادری به وجود آید دور نگاه می دارد. با این حال، مانع جفت می تواند تحت تاثیر هورمون های استرس و سیتوکینین های مادری به خطر بیافتد. مواجه شدن زنان باردار با استرس های فیزیکی و روحی می تواند بر یاد گیری، حافظه، اختلالات رفتاری و خلقی فرزندان موثر باشد. همچنین استرس بارداری موجب کاهش وزن نوزادان متولد شده، افزایش اضطراب و اختلالات خواب و بروز رفتارهای شبه افسردگی در بزرگسالی میشود. مطالعات نشان می دهد که استرس جنینی محور HPA را مجدداً برنامه ریزی میکند و سبب افزایش ترشح پایه ای هورمون های گلوکوکورتیکوئیدی وابسته به استرس می شود. دوباره برنامه ریزی شدن محور HPA منجر میشود به کاهش فعالیت حفاظتی بتا-هیدروکسی استروئید دهیدروژناز مربوط به جفت که جنین را از گلوکوکورتیکوئید های مادری محافظت میکند (۲۹). تغییر در تنظیم فعالیت محور HPA در سراسر زندگی افراد بالغ تاثیر گذار است و منجر به تغییر در بافت های قرار گرفته در معرض گلوکوکورتیکوئید آندوژنیک می گردد. افزایش طولانی مدت کورتیزول پلاسمای جنینی وابسته است با تصلب شرائین، نقص ایمنی، اضطراب و اختلالات شناختی و همینطور افزایش سطح کلسترول و ایجاد دیابت در دوران بزرگسالی. همینطور ممکن است در سطح سیستم عصبی مرکزی، تغییراتی را بر روند رشد و توسعه هیپوکامپ داشته باشد (۲۹).

طبق مطالعات استرس مادری به تغییرات قلبی - عروقی و آندوکروینی سنگین و متعدد در مادر منجر می شود. این تغییرات شامل افزایش غلظت ACTH پلازما، بتا آندورفین و گلوکوکورتیکوئید و کاتکول آمین ها می

باشد. اگر چه همانطور که ذکر شد جفت به عنوان یک مانع برای تعداد بسیاری از فاکتور های مادری عمل می کند، اما تعداد زیادی از این فاکتورها به جنین وارد خواهند شد. بنابر این ممکن است بطور غیر مستقیم از طریق تغییر در عملکرد جفت در جنین اثر بگذارند. برای مثال، گلوکوکورتیکوئید مادری احتمالا تولید هورمون های آزاد کننده کورتیکو تروپین (CRH) را به وسیله جفت تحریک می کنند و سبب فعال شدن محور HPA جنین می گردد. افزایش غلظت کاتکول آمین مادری منجر به انقباض رگهای خونی جفت می گردد و ممکن است به هیپوکسی جنین منجر شود که خود ممکن است به فعال شدن سیستم عصبی سمپاتیکی جنین منجر گردد. سیستمی که نشان داده شده به وسیله محیط اولیه جنینی برنامه ریزی می شود (۲۹).

برنامه ریزی سیستم عصبی سمپاتیک و سیستم های نوروترنسمیتر در مغز سر انجام و منجر به تغییر پاسخ های فیزیولوژیکی به استرس در فرزند خواهد شد. همانطور که دیگر فاکتور ها بی شک مهم هستند اما گلوکوکورتیکوئید ها عاملی مهم برای ایجاد اثرات استرس بارداری بر عملکرد HPA و رفتارهای بعد از تولد اند.

کورتیکوسترون پلاسمای مادر و جنین بطور قابل توجهی بعد از استرس مادری در موش صحرایی افزایش می یابد. مطالعات ثابت کرده اند که بیشترین انتقال گلوکوکورتیکوئید ها از طریق جفت در جنین های ماده اتفاق می افتد. بدین ترتیب اثرات استرس بر زاده های ماده بیشتر است تا زاده های نر. در موشهایی که استرس پیش از تولد دیده اند به علت کاهش رسپتورهای گلوکوکورتیکوئیدی و اویپوئیدی، فیدبک مهاری هورمون آزاد کننده کورتیکوتروپین تضعیف شده و سطح کورتیکوسترون پلاسمایی بالا می رود، از این رو در سازش با محیط جدید

خود ضعف نشان می‌دهند. در هفته آخر بارداری بخش‌های مختلف مغز جنین سازماندهی پیدا کرده و عملکرد سیستم HPA تکمیل می‌گردد. در مادران باردار در معرض استرس میزان پروتئین متصل به کورتیکوسترون (GBG) کاهش یافته و باعث افزایش فیدبک (CRH) می‌شود که نتیجه آن افزایش کورتیکوسترون آزاد است (۲۹). نورون‌های مغزی جنین در اثر استرس مادر دچار تغییرات نوروتوکسیک می‌شوند. نورون‌های هسته پاراونتریکولار در گروه استرسی کوتاه‌ترند (۳۰). هورمون‌های ترشح شده در هنگام استرس متابولیسم را افزایش داده و میزان مواد غذایی در دسترس جنین را کم می‌کند که این خود می‌تواند دلیلی بر کاهش تکوین جنین این مادران باشد (۳۱). محققان بر این باورند که افزایش کورتیکوسترون در اثر استرس در موش‌های باردار سبب بروز اختلال در رشد و نمو طبیعی عصبی موش شده، این عقب‌ماندگی رشدی در نواحی مختلف از جمله دستگاه لیمبیک گزارش شده است. هرگونه افزایش در سطح کورتیکوسترون پلاسمای خون مادر می‌تواند باعث افزایش بیشتر سطح این هورمون در جنین شود. از آنجا که این هورمون دارای اثرات بسیار گسترده در تکثیر و مهاجرت سلول است، افزایش بیش از حد آن سبب تکثیر بیش از حد سلول‌ها و اختلال رشد آنها و نیز به تأخیر افتادن مهاجرت سلول‌ها در طی تکامل جنین می‌گردد (۳۰). استرس در طی بارداری در موش‌های صحرایی بارور سبب کاهش تعداد سلول‌های هرمی CA3 در هیپوکامپ گردیده اما بر روی وضعیت سلول‌های CA1 هیپوکامپ تاثیری ندارد (۳۲).

فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز (BDNF⁶) عضوی از خانواده نوروتروفین هاست که این خانواده گروهی از فاکتورهای رشد پلی پپتیدی هستند (۳۳). نوروتروفین ها رسپتور تروپومیزین کیناز با تمایل بالا (TrKB) را فعال میکنند. BDNF اثرات خود را از طریق تاثیر بر بقاء و رشد عصبی با فعال کردن گیرنده بتاتیروزین کیناز در نورون ها و سلول های گلیال انجام می دهد. مطالعات انسانی و حیوانی نشان داده که استرس با کاهش میزان BDNF ارتباط دارد و کاهش در میزان حمایت کننده های نوروتروفیک باعث بروز آتروفی در هیپوکامپ و احتمالاً سایر قسمت های مغز از جمله قشر میانی فرونتال شود. BDNF انتقال سیناپسی و فعالیت های وابسته به پلاستیسیته را تنظیم و LTP را القاء می نماید (۳۴).

استرس باعث بروز تغییرات ساختاری نورون ها در طی تکامل مغز شده و آتروفی آنرا سبب می شود. همچنین می تواند باعث کاهش ارتباطات طبیعی، سائز هیپوکامپ و عملکرد شناختی آن شود. بیان BDNF در طی دو هفته اول از دوره جنینی در موش فعال و ۱۰ تا ۱۴ روز پس از تولد به بالاترین سطح خود در هیپوکامپ می رسد.

BDNF حیات نورون ها را از طریق اتصال به گیرنده TrKB افزایش میدهد ولی استرس دوران جنینی الگوی ارتباطی این مسیر سیگنالینگ را تغییر می دهد (۳۵).

⁶-Brain-derived neurotropic factor

۷-۱-۱. اثرات سوءامواج الکترومغناطیسی (EMF)

با پیشرفت صنعتی شدن زندگی و توسعه دستگاهها و وسایل الکتریکی، تولید امواج الکترومغناطیسی در محیط زندگی انسانها روز به روز بیشتر می شود. خطوط انتقال برق، وسایل الکتریکی خانگی و مبدل های الکتریکی از منابع اصلی تولید میدان های الکترو مغناطیسی می باشند. تا کنون تحقیقات متعددی در ارتباط با اثرات امواج الکترومغناطیسی بر روی سیستم عصبی انجام شده است. نتایج حاصل از تاثیر این امواج بر روی فعالیت های مغز از جمله کاهش حساسیت به محرک های حسی، تغییر در فعالیت بیوالکتریکی مغز و اختلال در پروسه های رفتاری و نیز ذخیره اطلاعات و کسب مهارت دارد (۳۶). میدان های الکترو مغناطیسی ممکن است باعث اختلال سیگنال های انتقالی در غشاء سلولی (یون کلسیم)، اختلال در بیان ژنتیکی، مهار تکثیر سلولی، اختلال در ارتباطات بین سلولی، جهش ژنتیکی، تغییرات سیستم ایمنی و سیستم عصبی_هورمونی شوند که در نهایت منجر به سرطان، بیماریهای عصبی و اختلالات تولید مثلی می شوند (۳۷). تحقیقات انجام شده نشان میدهد درموش های صحرایی که با فرکانس های تتا تحت تابش امواج الکترومغناطیسی قرار داده شده بودند نشانه هایی از فراموشی مشاهده گردید (۳۸). نتایج حاصل از تحقیقات نشان می دهد که تابش امواج EM با فرکانس ۲۰ کیلوهرتز قبل از تولد به موشها تاثیری بر وزن هیپوکامپ، کورتکس و سطح DNA در روز ۲۱ بعد از تولد

ندارد، اما بعد از ۳۰۸ روز موجب کاهش مقدار DNA و افزایش فاکتور رشد (NGF)^۷ و فعالیت برخی آنزیمها در مغز می گردد (۳۹).

اخیراً گزارش شده است که با قرار دادن رت های باردار در میدان های الکترو مغناطیسی نشانه هایی از اختلال در رفتار یادگیری نوزادان آنها در زمان بلوغ مشاهده گردید (۴۰). تعدادی مطالعات اشاره میکنند که قرار گرفتن طولانی مدت در معرض میدان های الکترو مغناطیسی با فرکانس پایین میتواند خطر بسیار قابل توجهی برای ابتلا به بیماری آلزایمر باشد (۴۱).

۸-۱-۱. ناپایداری کروموزومی پس از رویارویی با میدانهای الکترو مغناطیسی

بسیاری مطالعات نشان میدهد که رویارویی با میدانهای الکترومغناطیسی ناپایداری ژنوم را سبب می شوند . ناپایداری کروموزومی سبب ایجاد خطا در جدایی ژنهای الل و ایجاد سلولهای نکروتیک و آپوپتوتیک در مغز و سلولهای عصبی می گردد. از آنجا که آلزایمر بیماری خاص کهولت است که در آن سلولهای مغزی دچار تغییر می گردند، در واقع سلولهای بنیادین عصبی^۸ هستند که دچار آسیب می شوند . جهش های ژنی در سلولهای بنیادین عصبی و اجداد آنها، تعداد آنها را در مراحل مختلف رشد و نمو بافت عصبی کاهش می دهد و این جهش ها نقش مهمی را در برنامه ریزی عملکرد مغز بازی میکنند (۴۲).

^۷-Nerve growth factor

^۸-Neural stem cell

۹-۱-۱. اثرات سوءاسترس بی حرکتی

محدودیت حرکتی می تواند به عنوان نوعی استرس اثرات گوناگونی بر سیستم های بیولوژیکی داشته باشد (۴۳).

استرس بی حرکتی دارای اثرات تحریکی بر سطح فعالیت بسیاری آنزیم های بیوشیمیایی است . محدودیت

حرکتی میتواند با ایجاد اختلالات پاتوفیزیولوژیک در عضلات قلبی سبب افزایش سطح سرمی آنزیم کراتین

کیناز گردد (۴۴). این استرس همچون انواع استرس ها می تواند باعث تولید انواع رادیکال های آزاد در بدن شود

.این رادیکال ها با پراکسید کردن اسیدهای چرب می توانند غشاءهای سلولی را تخریب و سبب رهایش آنزیم ها

از عضلات یا بافتهای دیگر در پلاسما گردند (۴۵). این نوع از استرس نیز با اثر بر فیزیولوژی جانوران در حوزه

های رشد ونمو و عملکرد محور HPA موجب رها شدن هورمونهای استرس می گردد. به علاوه می تواند سبب

افزایش تولید نیتريت اکساید (NO) در بافت مغز گردد، این افزایش ضمن اینکه به عنوان یک ژنوتوکسیک مطرح

است ،سبب سرکوب تستوسترون وبطور متقابل افزایش سطح کورتیکو استروئیدها می گردد (۴۶). استرس بی

حرکتی سبب اتروپی دندريت های رآسی سلولهای کورتکس و پره فرونتال داخلی در رت گردد (۴۷).

۱۰-۱-۱. اثرات سوء استرس ازدحامی

ازدحام بصورت افزایش تراکم جاندار در محیط تعریف می شود که عامل بسیار مهم ومؤثری بر ارگانيسم

ميباشد.تجمع گاز ،حرارت ورطوبت ،کاهش دریافت و استفاده از غذا و همچنین مداخله در رشد همگی ناشی از

افزایش اندازه وتراکم در محیط هستند . فعالیت فیزیکی نیز در اثر عدم تحرک محدود می شود ازدحام میتواند

به عنوان استرس بروی احساس، اعمال مغزی و فعالیت های آندوکراین مؤثر باشد (۴۸). این استرس بر عملکرد ارگانه‌های مختلف تأثیرات منفی بر جای می‌گذارد. از جمله این اثرات می‌توان به کاهش تعداد کل سلولهای بافت طحال، کاهش فعالیت تولید مثلی درموشهای نر، کاهش اندازه سلولهای عصبی کورتکس و بخش فرونتال مغز اشاره کرد. این تأثیرات می‌تواند به دلیل رادیکالهای آزاد تولید شده در پی قرار گیری حیوانات در معرض استرس باشد بطوری که محققین معتقدند استرس اجتماعی، با تولید گونه های اکسیژن واکنشی و ترکیب با بیلی روبین، سبب افزایش بیوپیرین می‌گردد. وجود بیوپیرین نیز میتواند از نشانه های استرس ازدحامی باشد (۴۹).

۱۱-۱-۱. یادگیری

روش های مختلفی جهت یادگیری وجود دارد که معمولا به صورت ترکیبی استفاده می‌شود. یادگیری از ۷ طریق زیر انجام می‌شود :

۱. بینایی : توسط لوب اکسیپیتال در پشت مغز مدیریت میشود. لوب پرییتال واکسیپیتال هر دو در موقعیت فضایی نقش دارند. ۲. شنوایی: لوب تمپورال مسئول حس شنوایی میباشد و لوب تمپورال راست بخصوص در ارتباط با موسیقی است. ۳. زبانی : لوب تمپورال و فرونتال و به طور خاص دو ناحیه بروکا و ورنیکه در تمپورال چپ مسئول حس و ربال می باشند. ۴. حرکتی : مخچه و کورتکس حرکتی اکثر حرکات فیزیکی را تحت کنترل دارد. ۵. منطقی : لوب پرییتال بخصوص در سمت چپ مسئول تفکر منطقی است. ۶. اجتماعی : لوب تمپورال و

فرونتال مدیریت اکثر فعالیت اجتماعی ما را به عهده دارند . سیستم لیمبیک نیز بر فعالیت اجتماعی و انفرادی

تاثیر می گذارد. ۷. انفرادی : تحت تاثیر لوب تمپورال و فرونتال و سیستم لیمبیک میباشد. (۵۰).

۱۲-۱-۱. حافظه

حافظه را می توان به دو بخش «حافظه بلند مدت»(Long-Term Memory) و «حافظه کوتاه مدت»(Short-Term

Memory) تقسیم نمود. در موقعیتهایی که نگهداری و ذخیره سازی مطالب برای چند ثانیه مطرح

است، (اغلب کمتر از ۳۰ ثانیه) در مقایسه با موقعیتهایی که مستلزم نگهداری مطالب برای مدت طولانی تری

است، (از چند دقیقه تا چندین سال) نوع حافظه فرق می کند. گفته می شود موقعیتهای نخست با حافظه کوتاه

مدت و موقعیتهای دوم با حافظه بلند مدت مرتبط می شود. لازم است ذکر شود در بعضی از مطالعات و منابع از

حافظه نوع سوم نیز با نام «حافظه حسی»(Sensory Memory) سخن به میان آمده است. همچنین

طبقه بندی حافظه بر اساس نوع اطلاعات در حافظه بلند مدت بصورت زیر می باشد:

۱. حافظه اظهاری یا آشکار(DECLARATIVE/EXPLICIT): این حافظه نیاز به یادآوری آگاهانه و

هشیارانه دارد. فرایند یادگیری در حافظه آشکار خودآگاه است. برای بازیابی آن به محرکات مختصر و سرخها

نیاز است. به دو زیر مجموعه تقسیم بندی می گردد:

الف. حافظه معنایی (SEMANTIC MEMORY): دانش عمومی ما از جهان پیرامون را در برمیگیرد. شامل

واژه‌ها، ایده‌ها، مفاهیم، ساختارها و نمادهای کلامی می‌باشد. حافظه معنایی یک حافظه مرجع می‌باشد. حافظه

معنایی مستقل از زمان و مکان می‌باشد. حافظه معنایی رمز گردانی انتزاعی دانش است.

ب. حافظه رویدادی (EPISODIC MEMORY): این حافظه رویدادها و تجارب سریالی (زنجیره‌ای) را در

برمی‌گیرد. این حافظه به زمان و مکان وابسته است. حافظه رویدادی همان حافظه شخصی هر فرد می‌باشد

مثل احساسات و هیجانات مربوط به یک زمان و مکان خاص. حافظه اتوبیوگرافیک نیز زیر مجموعه این حافظه

می‌باشد که به حافظه یک رویداد خاص در زندگی شخصی فرد دلالت دارد. مثل: تاریخ یک رویداد مهم ملی،

غذایی که دیشب میل کرده‌اید، نام یک همکلاسی قدیمی. در مجموع حافظه رویدادی عبارت است از به خاطر

سپردن رویدادها به علاوه کل بافتار پیرامون آن.

۲- حافظه روندی یا ضمنی (PROCEDURAL/IMPLICIT): این حافظه به یادآوری خودآگاه و هشیارانه

متکی نیست. فرایند یادگیری در حافظه ضمنی ناخودآگاه است. بیان گفتاری در آن درگیر نبوده و شامل

مهارت‌های حرکتی می‌باشد. مثل راندن دوچرخه یا نواختن پیانو. واکنش‌های هیجانی شرطی شده نیز در این

دسته جای دارند. (۵۱)

۱۳-۲. یادگیری و حافظه فضایی

در روانشناسی شناختی و نورولوژی، حافظه فضایی بخشی از حافظه است که مسئول ضبط اطلاعات درباره محیط و جهت گیری فضایی است. برای مثال، حافظه فضایی شخص برای حرکت در اطراف یک شهر آشنا مورد نیاز است، درست همانطور که حافظه فضایی موش برای یادگیری محل غذا در پایان یک پیچ و خم مورد نیاز است. در انسان و حیوانات حافظه فضایی به صورت یک نقشه شناختی خلاصه میشود (۵۲).

۲-۱ مروری بر متون و تحقیقات انجام شده:

از قرن بیستم مطالعات متعددی انجام شد تا موادی که اثرات بالقوه مفیدی برای سلامت انسان دارند را شناسایی کنند همچنین موادی را که بیماریزا و یا سرطانزا هستند را معرفی نمایند. حدود ۲۰۰۰ سال پیش بود کهسقراط گفت: غذا را داروی خود و دارو را غذای خود قرار دهید، بسیاری از مواد خوراکی هستند که ورود کم یا زیاد آنها به بدن تاثیر منفی بر سیستم های بدن گذاشته و زمینه بیماری را فراهم می آورد. مصرف داروها و تاثیر عوامل مختلف در دوران حاملگی می تواند بسیاری از فرایندها طبیعی فیزیولوژیک را در نوزادان تولد یافته تغییر دهد. برای مثال برطبق مطالعات Gagin و همکارانش تغییر در غلظت هورمونهای جنسی در دوران بارداری باعث تغییر در ساختارهیپوکمپ و در نتیجه تاثیر بر یادگیری فضایی موشهای صحرایی پس از تولد می شود (۵۳).

استرس دوران بارداری می تواند خطر ساز بوده و در ایجاد و تشدید بیماریها دخیل باشد. بر طبق

مطالعات Schopper و همکارانش اثر استرس دوران بارداری می تواند به تغییر فعالیت محور هیپوتالاموس -

هیپوفیز-آدرنال در دوران جنینی و زندگی پس از آن منجر شود (۵۴). بنابر این استرس دوران بارداری می تواند

بر ساختار و عملکرد مغز تاثیر گذار بوده و بر فرایندها و عمل سیستم عصبی پس از تولد مانند پاسخ به عوامل

محرک سیستم عصبی و موجد تشنج و احتمالا سیگنالینگ حس درد و یادگیری اثر بگذارد. در تایید این

مطالب، صادقانی و صبوری در سال ۲۰۱۰ در مطالعه ای بر روی موشهای صحرایی نشان دادند که استرس دوران

جنینی بصورت وابسته به جنس و وابسته به زمان تشنج ایجاد شده بوسیله پیلوکارپین را در موش های

صحرایی ۱۹ روزه تشدید می کند. و میزان کورتیکوسترون خون را هنگام استرس بیشتر بالایی برد (۵۵).

در سال ۲۰۰۷ رنگون و همکاران نشان دادند که استرس دوران جنینی مزمن و خفیف آسیب های مغزی دوران

نوزادی را شدید ترمی کند. (۵۶).

حشمتیان و همکاران در سال ۲۰۱۰، در مطالعه ای تاثیر استرس وارده به مادر در حاملگی و خطر بروز صرع در

نوزادان موشهای سوری بررسی کردند. در این مطالعه موشهای سوری حامله در دوران بارداری (در شروع هفته دوم

بارداری)، روزی دو بار به مدت ۳ روز متوالی در معرض استرس بی حرکتی قرار گرفتند. ۱۰ روز بعد از زایمان

نوزادان آنها با هالوتان بیهوش و گردن زده شده و هیپوکامپ به طور کامل استخراج و با محلول مایع مغزی

نخاعی با منیزیم کم پرفیوز شد تا وقایع شبه صرعی خودبه خودی در آنها ایجاد گردد. نتایج نشان داد که تعداد

تشنج ها و زمان کل تشنج در گروه استرس نسبت به گروه کنترل تغییرات معنی داری داشت. این یافته ها بیان کننده آن است که استرس حاد دوران جنینی که ممکن است مشابه استرس در حاملگی انسان باشد می تواند یک فاکتور تعیین کننده در فعالیت هیپوکامپ باشد و مکانسیم مهاری دخیل در این واقعه ممکن است افزایش نورواستروئیدها در خون و مغز باشد (۵۷).

با توجه به اینکه استرس ها اثرات نامطلوبی بر سیستم مرکزی اعصاب و عملکردهای عصبی دارد، در مطالعه دیگری که در سال ۲۰۰۷ توسط Pivina انجام شد. حساسیت موش های صحرایی به استرس اجتماعی ناشی از افزایش تراکم در گروه ها (موش های صحرایی ماده در گروه های ۹-۱۰ تایی در هر قفس) ، در دوره بلوغ بررسی گردید. نتایج، تغییر معنی داری را در طول سیکل جنسی و سطح استرس نشان داد. این شرایط ، سطح کورتیکواسترون را در موش های صحرایی تحت استرس قبل از تولد افزایش داد. واکنش استرسی در محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنال بالا بود و بر سطح یادگیری و سیکل جنسی اثر بیشتری داشت. در این موش های صحرایی آسیب به سیکل جنسی و رفتار بعد از مساعد شدن شرایط مکانی، باقی می ماند در حالیکه موش های صحرایی گروه کنترل، سیکل جنسی و سطح استرس طبیعی را نشان دادند. داده ها پیشنهاد کرد که موش های صحرایی ماده به استرس ناشی از ازدحام، بیشتر حساسند (۵۸).

بر اساس مطالعه ای در سال ۲۰۱۷ در دانشگاه نانکایی چین استرس دوران جنینی در موش های صحرایی موجب اضطراب اختلال شناختی و افسردگی رفتاری شده است. در این بررسی در روز ۱۵ تا ۲۱ بارداری ۳ بار

در روز به مدت ۴۵ دقیقه داخل رسترینر قرار داده شدند. تست رفتاری و اضطراب بوسیله open field test

(OPT) و (Elevated plus-maze) EPM و مازابی موریس MWM انجام شده است. استرس دوران

جنینی به طور قابل توجه موجب افزایش اتوفاژی هیپوکامپ شده است. تنظیم کردن اتوفاژی یک هدف برای

کاهش آسیب در موش های صحرایی که تحت تاثیر استرس دوران جنینی قرار داشته اند است (۵۹).

در مطالعه دیگر در سال ۲۰۱۷ نشان داده شده است که سختی در اوایل زندگی میتواند یک اثر ماندگار در

رفتار داشته باشد. بعلاوه مشخص شد که گلوکوکورتیکوئیدها و نوروتروفین ها و سیتوکین ها در استرس

دوره جنینی تاثیر دارند. در این مطالعه موش باردار در آخرین هفته بارداری روزانه ۲ ساعت

Restraint قرار داده شده اند. استرس دوره جنینی موجب اختلال در حافظه فضایی شده اند. اگر چه در

Alternation test کمبود حافظه فقط در موشهایی که تحت استرس مزمن بوده اند ایجاد شده است. به

طور همزمان BDNF کاهش و رسپتور گلوکوکورتیکوئید و نسبت Th1/Th2 در هیپوکامپ افزایش می یابد.

این تغییرات در لنف نودهای محیطی نیز مشاهده شد. این نتایج نشان داد که سلولهای لنفوسیت میتوانند مارکر

محیطی مناسبی جهت پیش بینی رفتار در افرادی که دچار استرس در دوره جنینی شده اند باشد (۶۰).

در یک مطالعه در سال ۲۰۱۶ که توسط Weinstock انجام شده است در رابطه با استرس دوره پره ناتال

مشخص شد که فرزندان این رت ها دچار کاهش CaMKII (CaM kinase II)

CREB mRNA و calmodulin-dependent protein kinase II در هیپوکامپ می شود که تاثیر

استرس دوره جنینی را مشخص میکند (۶۱).

یکی از رفتارهایی که مورد توجه است، یادگیری و حافظه می باشد و در دهه های اخیر مطالعات زیادی در این

باره در دست انجام است (۲۰). بنابر آنچه که ذکر شد، اساس مطالعه ما این است که با توجه به اینکه سیستم

عصبی رشد و تکامل اصلی خود را در دوران جنینی طی می کند حال اگر چنانچه جنینی در دوران بارداری

تحت استرس های گوناگون قرار گیرد، این مسئله چه اثری بر رفتار او هنگام مواجهه با شرایط یادگیری خواهد

داشت. از طرفی مطالعاتی که روی استرس انجام شده است هنوز کم بوده و در ابتدای راه قرار دارد و در متون

هم به اثر استرس های توام مورد اشاره در این طرح پرداخته نشده است. و از سوی دیگر با توجه به اهمیت

موضوع و فراگیری روزافزون میدان های الکترومغناطیس، کاهش تحرک و افزایش جمعیت و تراکم، هدف این

مطالعه بررسی اثر استرس ترکیبی در دوران بارداری بر یادگیری و حافظه با مدل واتر ماز در موش های صحرایی

تولد یافته می با

فصل دوم

اهداف

و

فرضیات

الف-هدف اصلی (General Objective):

تعیین اثر استرس ترکیبی (ازدحام-بی حرکتی و الکترومغناطیس) دوران پره ناتال بر یادگیری و حافظه فضایی در موش های صحرایی

ب-اهداف فرعی (Specific Objectives):

تعیین اثر استرس ترکیبی دوران جنینی بر یادگیری موش های صحرایی تولد یافته نر

تعیین اثر استرس ترکیبی دوران جنینی بر حافظه موش های صحرایی تولد یافته نر

ج-اهداف کاربردی (Applied Objectives):

با شناخت اثرات مضر استرس می توان آگاهی عمومی را افزایش داد و به جامعه هشدار داد تا حتی الامکان از آن پرهیز نمایند. البته برای بررسی و تعیین جزئیات آن لازم است مطالعات بیشتری صورت گیرد.

د-فرضیه پژوهش (Hypothesis):

استرس ترکیبی دوران جنینی ، ظرفیت حافظه و یادگیری را در موش های تولد یافته کاهش می دهد.

فصل سوم

مواد

و

روش کار

۳-۱. مواد و روش های مورد استفاده:

۳-۱-۱: وسایل و مواد مورد نیاز برای اتاق حیوانات

الف) قفس پلی کربنات ب) شیشه ابخوری ج) پوشال تمیز د) مواد و محلولهای لازم: جهت ضد عفونی و شستشوی قفس ها، شیشه های ابخوری و اتاق حیوانات از قبیل پنبه، الکل، ساوین و مواد شوینده. ه) پلیت آماده غذای موش و) دماسنج جهت کنترل دمای اتاق. ز) رطوبت سنج جهت کنترل رطوبت. ح) تایمر جهت تامین ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی در اتاق حیوانات. ط) موش: نر و ماده به وزن ۲۰۰-۲۵۰ گرم.

۳-۱-۲: وسایل و مواد مورد نیاز برای ایجاد استرس و انجام آزمون

رسترنر برای ایجاد استرس بی حرکتی - میدان الکترومغناطیسی - مازابی برای انجام آزمون

۳-۲. محل و نحوه انجام آزمایش

این مطالعه تجربی در سال ۹۵-۱۳۹۷ در گروه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی قزوین انجام گرفت. روش کار این تحقیق بر اساس قوانین بین المللی در مورد حیوانات آزمایشگاهی، و تصویب کمیته اخلاق دانشگاه بود. موش های صحرایی بالغ نر و ماده نژاد ویستار از انسیتو پاستور کرج در محدوده وزنی ۲۰۰-۲۵۰ گرم خریداری شدند و در اتاق حیوانات در شرایط دوره ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی و در دمای ۲۰-۲۵ درجه سانتی گراد

ورطوبت نسبی ۴۵-۵۵ درصد نگهداری شدند. در طول مدت دوره تحقیق، حیوانات به صورت نامحدود از غذای

تهیه شده از کارخانه خوراک پارس دام تهران و آب آشامیدنی شهری استفاده کردند.

در این تحقیق از ۲ گروه ۶ عددی موش ماده استفاده شد. به قفس هر کدام از گروهها ۳ موش نر بالغ به مدت ۴

شب جهت جفت گیری اضافه شدند. پس از آن موشهای ماده دارای پلاک واژنی حامله تلقی شده و ۸ روز بعد به

مدت ۱۰ روز از (روز هشتم تا هجدهم حاملگی) هرروز ۴ ساعت در معرض امواج الکترو مغناطیسی با شدت ۰.۵

میلی تسلا و فرکانس ۵۰ هرتز (روزی دوبار)، استرس بی حرکتی بمدت نیم ساعت (روزی دوبار در هر مرحله) با

قرار دادن در رسترنر و استرس مزاحم (نگهداری ۶ موش در یک قفس کوچک) دریافت کردند.

در یک ماهگی فرزندان نر جدا شده و ۷۵ روز بعد از زایمان یادگیری و حافظه در آنها مورد بررسی قرار گرفت.

انجام آزمایش بدین ترتیب بود که از بین موشهای تولد یافته نر گروه کنترل و استرس، از هرگروه ۸ موش نر

بصورت تصادفی انتخاب و ازمون یادگیری و حافظه فضایی روی آنها انجام شد. حجم نمونه ها با توجه به

مطالعات مشابه در نظر گرفته شد. موشها بمدت ۶ روز قبل از شروع آزمون، در دست گرفته شدند تا استرس آنها

متعاقب گرفته شدن هنگام کار کم شود.

۳-۳. گروه های آزمایش

۱۶ سر موش صحرایی نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۰۰-۲۵۰ گرم را در ۲ گروه ۸ تایی تقسیم شدند، شامل:

۱) گروه کنترل که هیچ استرسی در دوران جنینی دریافت نکردند. ۲) گروه استرس که استرسی ترکیبی

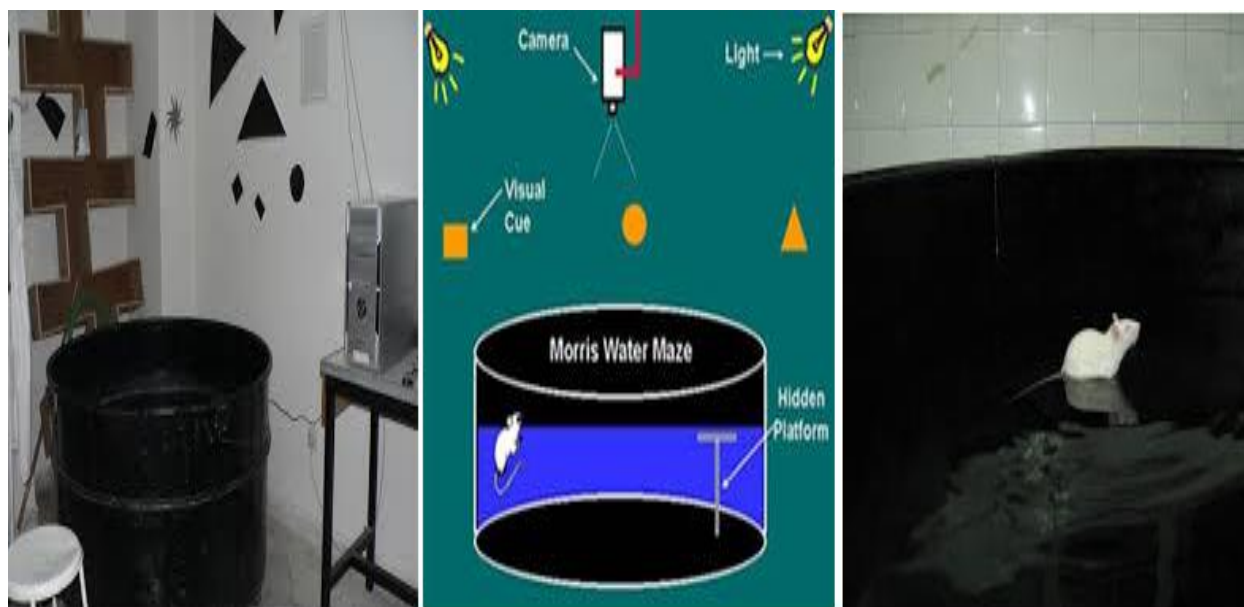
در دوران جنینی دریافت کردند.

۳-۴. مدل حیوانی سنجش:

برای ارزیابی یادگیری و حافظه حیوانات از دستگاه ماز آبی موریس استفاده شد. در این آزمون رت ها یاد می گیرند یک صفحه زیر آبی=سکو (قطر ۱۰cm و ۲ cm زیر سطح آب) را بوسیله سرنخ های خارجی پیدا کنند. دستگاه از یک حوضچه مدور با قطر 20 ± 18 cm که توسط آب با دمای ۳۱ درجه سانتیگراد پر شده و همچنین بوسیله یکسری از علایم خارجی احاطه شده است، تشکیل می شود. حوضچه به چهار ربع مساوی تقسیم شده و چهار نقطه شروع در محل تقاطع ربع ها می باشد. محل صفحه زیر آب بطور ثابت برای تمام آزمایشات در ربع شمال غربی بوده و اطلاعات توسط نرم افزار بصورت خودکار ثبت می شد. هر موش رو به دیواره حوضچه در آب قرار گرفت و مدت ۶۰ ثانیه اجازه داشت تا صفحه زیر آب را پیدا کند. رت هایی که در این ۶۰ ثانیه نمی توانستند صفحه را بیابند. بصورت دستی به سمت سکو هدایت و بمدت ۱۰ ثانیه روی صفحه قرار می گرفتند تا موقعیت سکو نسبت به علایم نصب شده در آزمایشگاه را به خاطر بسپارند. در صورتی که حیوان سکو را پیدا می کرد به آن اجازه داده می شد ۳۰ ثانیه روی صفحه بماند همزمان با قرارگیری حیوان روی سکو ، عمل ضبط دوربین متوقف می شود .و بعد از آن بلافاصله آزمایش بعدی انجام می شد.

رت ها ۴ آزمایش متوالی را در هر روز با فاصله ۱۰ دقیقه و در مجموع به مدت ۵ روز انجام می دادند. زمان رسیدن به صفحه ، مسافت شنا شده و سرعت شنای حیوان بطور خودکار توسط ، نرم افزار ثبت می شد.

یک روز بعد از اتمام آموزش مرحله بخاطرآوری آزمون (prob) انجام شد. در این مرحله صفحه زیر آب برداشته شده و هر کدام از رت ها در ربع جنوب غربی درون آب قرار گرفته و بمدت ۱ دقیقه وقت داشتند تا آزادانه شنا کنند. حافظه بیاد آوری در این مرحله بوسیله ارزیابی مدت زمان حضور و مسافت شنا شده در ربع هدف و درصد زمان سپری شده در ربعی که صفحه قبلاً قرار داشته ارزیابی می شد (۶۲).



شکل ۱-۳ . دستگاه ماز

اطلاعات جمع آوری شده از گروه های آزمایشی مختلف، با استفاده از نرم افزار SPSS ۱۹ و آنالیز واریانس یک طرفه One-Way ANOVA انجام گردید. برای این منظور اطلاعات خام هر گروه آزمایشی به صورت متوالی وارد و انحراف معیار استاندارد تعیین شد و اختلاف بین گروه ها توسط LSD به صورت مجزا تعیین گردید و $P < 0.05$ به عنوان شاخص معنی دار بودن مطرح گردید.

فصل چهارم

یافته ها

در این مطالعه تاثیر استرس ترکیبی (استرس میدان های الکترو مغناطیسی، کاهش تحرک، و تراکم) در

دوران بارداری بر فرایند یادگیری و حافظه فضایی پس از تولد بررسی شد. نتایج حاصل از این مطالعه

بصورت ۷ شکل نمایش داده شده است.

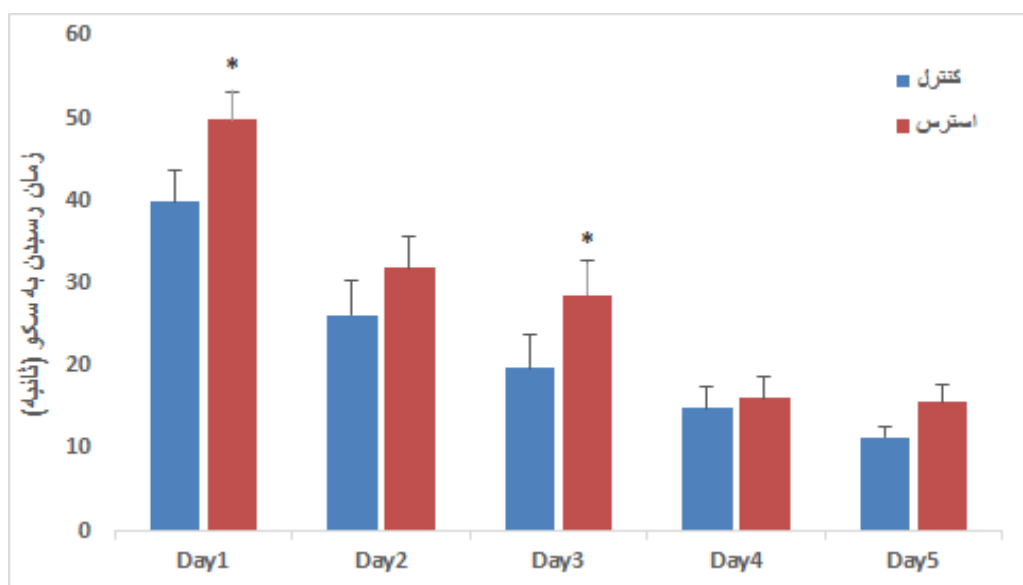
۴-۱. مقایسه میانگین مدت زمان طی شده تا رسیدن به سکوی نجات در گروه های مورد مطالعه:

نتایج بدست آمده نشان داد که در نوزادان تولد یافته نر از مادرانی که در دوران حاملگی در معرض استرس

ترکیبی قرار داشتند بویژه در روز های اول تا سوم مکان سکو را دیرتر پیدا کردند و از گروه کنترل دیرتر به

سکو رسیدند و این اختلاف در روز های اول و سوم معنی دار است ($p < 0.05$) و این بدین معنی است که

استرس جنینی می تواند میزان یادگیری فضایی را بطور قابل ملاحظه ای کاهش دهد. (نمودار ۱).



نمودار ۱- مقایسه مدت زمان رسیدن به سکو در گروه های مورد مطالعه $P<0/05$ * بین گروه استرس ترکیبی با گروه

کنترل

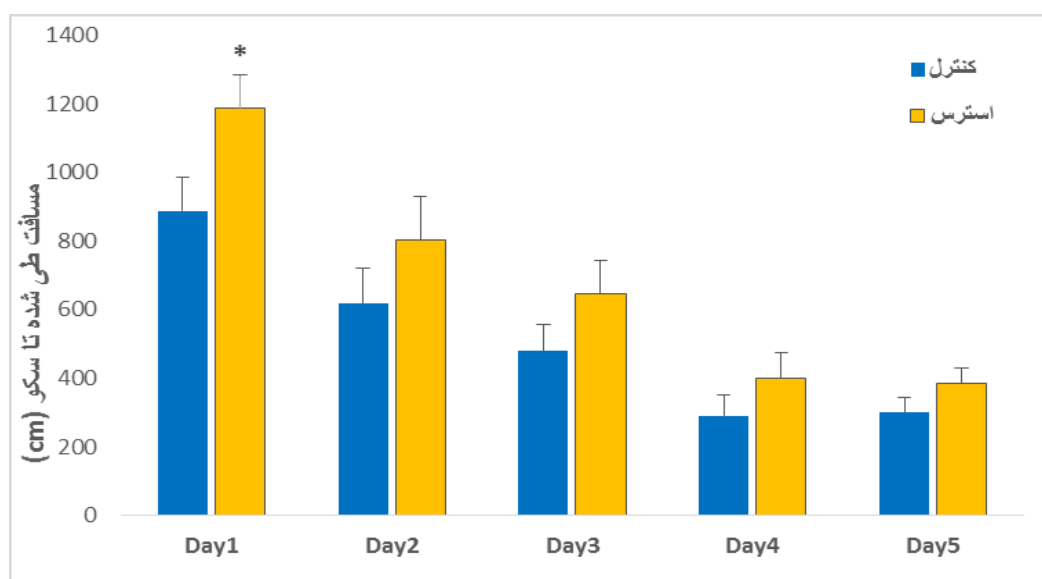
۴-۲. مقایسه میانگین مسافت طی شده تا رسیدن به سکو در بین گروههای مورد مطالعه:

مشابه نتایج مربوط به زمان رسیدن به سکو، موش های گروه استرس مسافت بیشتری را برای رسیدن به

سکو در مقایسه با گروه کنترل طی کردند. و این اختلاف فقط در روز اول ازمون معنی دار است ($P<$

0.05) و این بدین معنی است که استرس جنینی میزان یادگیری فضایی را کاهش می دهد. (نمودار

شماره ۲)



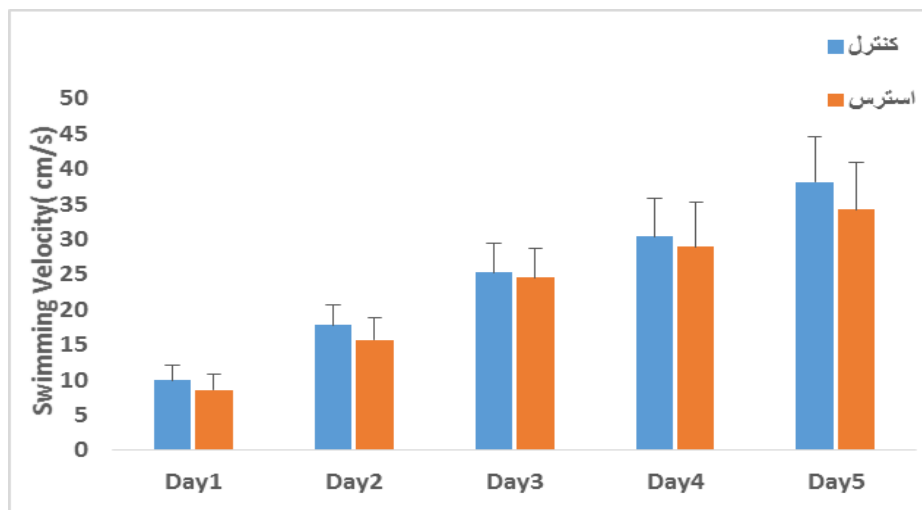
نمودار ۲-مقایسه مسافت طی شده برای رسیدن به سکو بین گروه های مورد مطالعه $P<0/05$ * بین گروه استرس ترکیبی

و گروه کنترل

۳-۴. مقایسه میانگین سرعت حرکت حیوان جهت یافتن سکو بین گروههای مورد مطالعه:

نتایج بدست آمده نشان داد که از روز اول تا پنجم سرعت حرکت حیوان جهت یافتن سکو بین دو گروه

افزایش یکسانی پیدا می کند ولی تفاوت معنی داری در این متغیر وجود ندارد. (نمودار ۳).



نمودار ۳- مقایسه سرعت حرکت حیوان جهت یافتن سکو بین گروههای مورد مطالعه . این تفاوتها بین دو گروه معنی دار

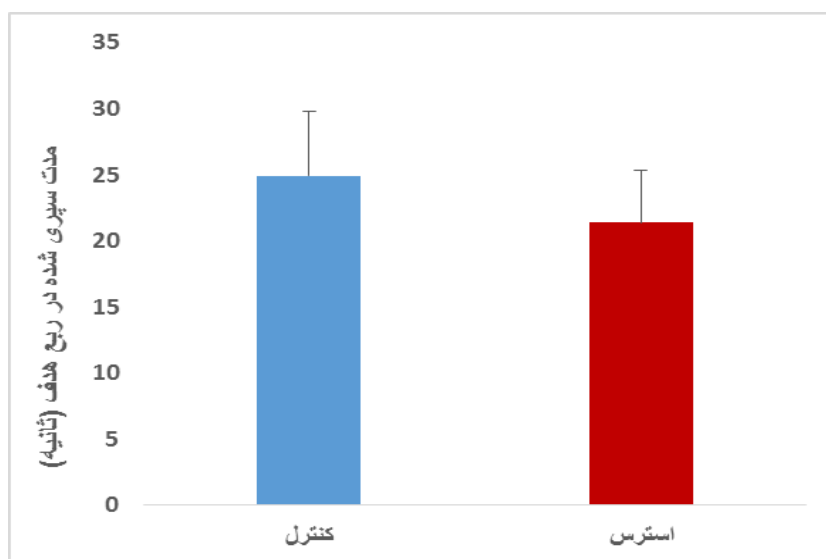
نیست.

۴-۴. مقایسه میانگین مدت زمان حضور در ربع هدف بین گروههای مورد مطالعه (حافظه)

استرس ترکیبی زمان حضور در ناحیه و ربع هدف را کاهش داد به گونه ای که موشهای گروه استرس مدت

زمان کمتری را نسبت به گروه کنترل در ناحیه هدف شنا کردند و زمان طی شده در ناحیه هدف در گروه

استرس ترکیبی کمتر از گروه کنترل بود، ولی این تفاوت معنی دار نبود. (نمودار شماره ۴)

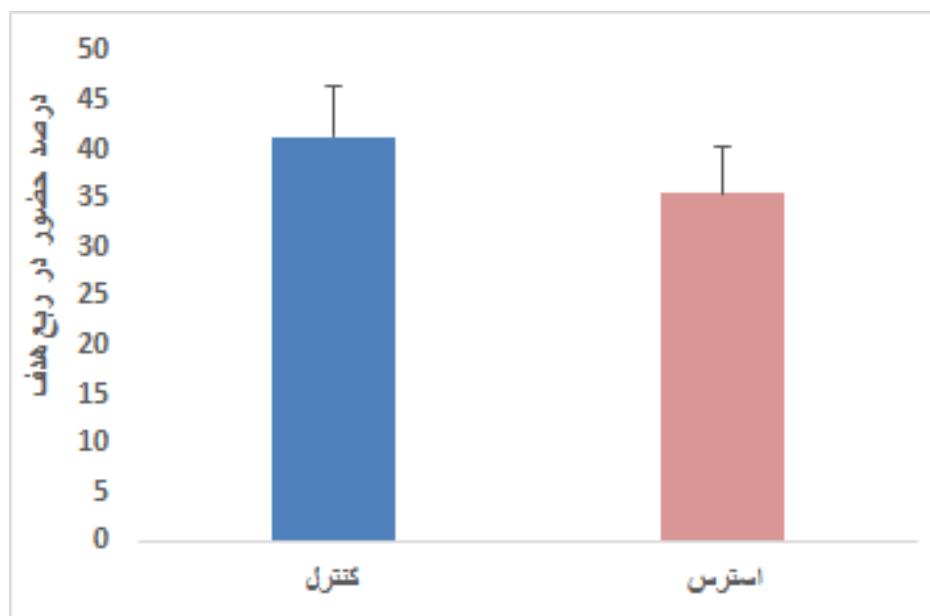


نمودار ۴- مقایسه مدت زمان طی شده در ناحیه هدف بین گروههای مورد مطالعه. زمان طی شده در ناحیه هدف در گروه

استرس ترکیبی کمتر از گروه کنترل بود.

۴-۵. مقایسه درصد زمان طی شده در ناحیه هدف بین گروه های مورد مطالعه (حافظه)

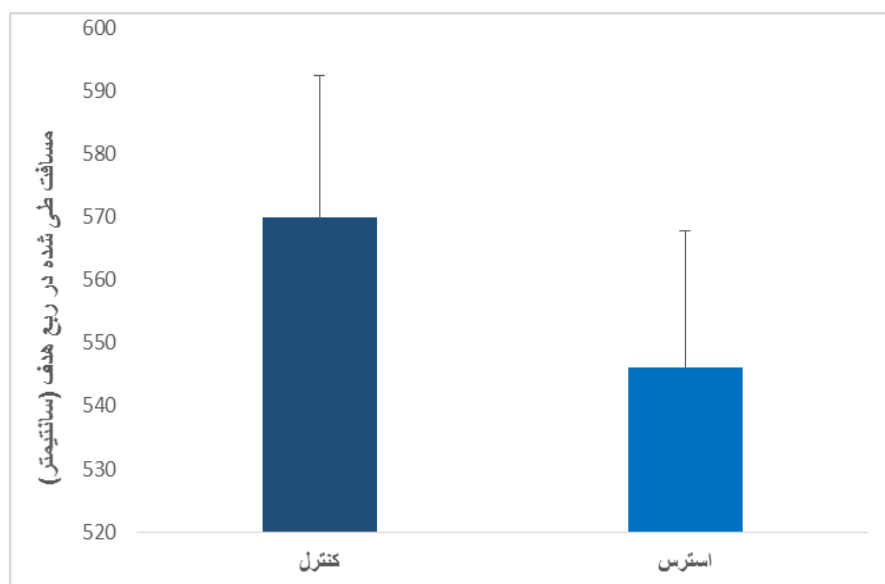
نتایج حاصل از بخش بخاطر آوری که توسط میانگین درصد زمانی سپری شده در هر چهار ناحیه اندازه گیری شد، نشان داد که ۲۴ ساعت پس از یادگیری فضایی، گروه استرس زمانی کمتری را نسبت به گروه کنترل در ناحیه ۱ جایی که قبلاً صفحه سکو در طول دوره آموزش در آن قرار داشته، سپری کردند. گرچه این تفاوت معنی دار نبود. درصد زمان طی شده در ناحیه هدف در این گروه کمتر از گروه کنترل بود، ولی برخلاف یادگیری فضایی استرس تاثیری بر حافظه فضایی بر موشها نداشت (نمودار شماره ۳)



نمودار ۵- مقایسه تأثیر استرس ترکیبی بر عملکرد حافظه طی آزمون بیاد آوری بین گروههای مورد مطالعه ، بصورت ارزیابی درصد زمان سپری شده در ناحیه هدف یک روز پس از یادگیری فضایی.

۴-۶. مقایسه میانگین مسافت طی شده در ناحیه هدف بین گروه های مورد مطالعه (حافظه)

استرس ترکیبی موجب کاهش مسافت طی شده و زمان حضور در ناحیه و ربع هدف شد به گونه ای که موشهای گروه استرس مدت زمان و مسافت کمتری را نسبت به گروه کنترل در ناحیه هدف شنا کردند ، ولی این تفاوت معنی دار نبود. (نمودار شماره ۶)

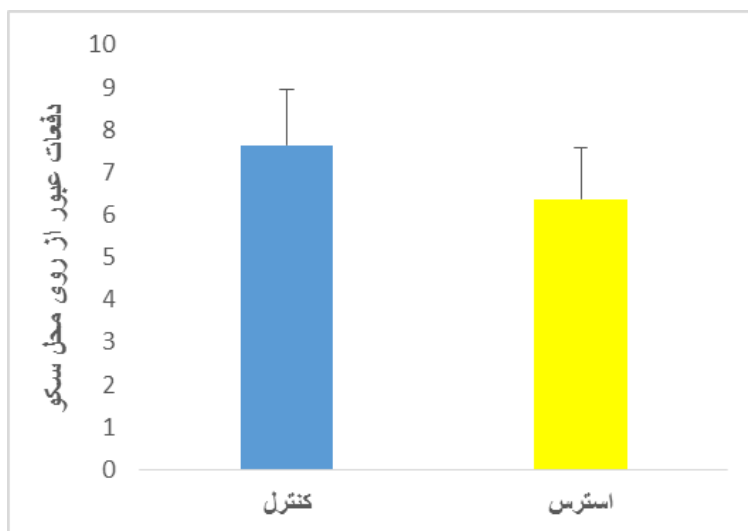


نمودار ۶- مقایسه تأثیر استرس ترکیبی بر عملکرد حافظه طی آزمون بیاد آوری بین گروههای مورد مطالعه ، بصورت ارزیابی میانگین مسافت سپری شده در ناحیه هدف یک روز پس از یادگیری فضایی.

۴-۷. مقایسه میانگین دفعات ورود به ناحیه هدف بین گروه های مورد مطالعه (حافظه)

استرس ترکیبی میانگین دفعات ورود و حضور در ناحیه هدف را نسبت به گروه کنترل کاهش داد ولی این

تفاوت معنی دار نبود. (نمودار شماره ۷)



نمودار ۷- مقایسه تأثیر استرس ترکیبی بر عملکرد حافظه طی آزمون بیاد آوری بین گروههای مورد مطالعه ، بصورت ارزیابی

میانگین دفعات ورود به ناحیه هدف یک روز پس از یادگیری فضایی.

فصل پنجم

بحث

و

نتیجه گیری

در این مطالعه اثر توام ۳ استرس شایع، شامل استرس میدان الکترو مغناطیسی، بی حرکتی و تزامم در دوره

وسط و انتهای بارداری که سیستم عصبی در حال بیشترین رشد و تکامل خود است بر یادگیری و حافظه

فضایی پس از تولد بررسی شد. نتایج این بررسی ها نشان داد که استرس پری ناتال در رت ها عملکرد

یادگیری و حافظه را در آزمون ماز آبی موریس کاهش می دهد. نتایج آزمایش نشان دهنده کاهش شاخص های

یادگیری و حافظه در روزهای آموزش و یک روز پس از فاز یادگیری در این آزمون رفتاری بود، هر چند که تنها

در زمان یک تا سه روز اول یادگیری تفاوتها بین دو گروه کنترل و استرس ترکیبی دوران حاملگی معنادار بود و

این بدین معنی است که استرس جنینی می تواند فرایند یادگیری را بیش از حافظه فضایی در موش های در

معرض استرس جنینی مختل کرده و میزان آن را کم کند.

نتایج آزمونهای رفتاری ما هم جهت و تایید کننده تحقیقات قبلی در این زمینه است. در همین راستا مطالعات

متعددی در مورد اثر استرس های مختلف مثل شنای اجباری، میدان الکترو مغناطیسی، بی حرکتی و استرس

تزامم دوران جنینی ویا بعد از آن بر روی رفتارهای طبیعی وجود دارد که نتایج اغلب آن مشابه یافته های ما

بوده و بر نقش منفی استرس بر ساختار و عمل سیستم عصبی تاکید می کند که در ذیل به مهمترین آن ها

اشاره می کنیم:

در مطالعه Lemaire و همکاران او که موشهای مادر در هفته آخر بارداری سه بار و بمدت ۴۵ دقیقه محدودیت

حرکتی داده شده بودند گزارش شده است که این استرس موجب اختلال در یادگیری حیوانات استرس دیده

شده و ممکن است علت آن، می تواند سبب کاهش نورون های گرانولی و نورون زایی در مغز بویژه هیپو کامپ و در نهایت ایجاد اختلال در محور HPA باشد. اگرچه تکامل مغزی قبل از تولد متکی به پس زمینه های ژنتیکی است، اما نتایج مطالعات نشان می دهد محیط جنینی هم میتواند اثرات عمیق برروی تکامل مغزی در بلوغ داشته باشد. تشکیلات هیپوکامپ نسبت به اثرات گلوکوکورتیکوئید های غده فوق کلیه که در طول ریتم روزانه و استرس مزمن ترشح می شوند حساس است. بدن نسبت به اثرات این هورمون ها در کوتاه مدت سازش پذیر است، اما زمانی که استرس تکرار میشود و یا تنظیم محور HPA به هم می خورد، سیستم های مذکور دچار اختلال می شوند (۶۳).

بر طبق مطالعات Sandi در ۲۰۰۵ استرس جنینی می تواند با کاهش NCAMS درنورونها مرتبط باشد. این پروتئین ها بصورت بحرانی درگیر در تکامل مغز جلویی و شکل پذیری سیناپسی هستند (۶۴).

در مطالعه دیگری که Son و همکاران او در سال ۲۰۰۶ انجام دادند ثابت شد که استرس بارداری (محدود کردن حیوان، شنای اجباری و تزریق سالین به کف پا) منجر به تخریب زیر واحدهای NR2B و NR1 گیرنده های NMDA پس سیناپسی و در نتیجه باعث تضعیف LTP می شود (۶۵).

همچنین Lee و همکاران در سال ۲۰۱۳ نشان دادند که استرس بارداری سبب بروز اختلال در حافظه فرزندان گردد که می تواند به علت کاهش نورون زایی در هیپو کامپ باشد در موش هایی که در دوران جنینی در معرض استرس قرار گرفته اند بیان گیرنده های گلوکو کورتیکوئید آمیگدال کاهش می یابد (۶۶).

بر اساس مطالعه ای در سال ۲۰۱۷ در دانشگاه نانکایی چین استرس دوران پره ناتال در رت ها موجب اضطراب اختلال شناختی و افسردگی رفتاری شده است. در این بررسی در روز ۱۵ تا ۲۱ بارداری ۳ بار در روز به مدت ۴۵ دقیقه داخل رسترینر قرار داده شدند. تست رفتاری و اضطراب بوسیله (OPT) open field test

EPM (Elevated plus-maze) و ماز ابی موریس MWM انجام شده است. استرس پره ناتال به طور قابل توجه موجب افزایش اتوفازی هیپوکامپ شده است. تنظیم کردن اتوفازی یک هدف برای کاهش آسیب در رت هایی که تحت تاثیر پره ناتال استرس شده اند میباشد (۵۹).

در مطالعه دیگر در سال ۲۰۱۷ نشان داده شده است که سختی در اوایل زندگی میتواند یک اثر ماندگار در رفتار داشته باشد. بعلاوه مشخص شد که گلوکوکورتیکوئید ها و نوروتروفین ها و سیتوکین ها در استرس دوره پره ناتال تاثیر دارند. در این مطالعه موش باردار در آخرین هفته بارداری روزانه ۲ ساعت restraint قرار داده شده اند. استرس پره ناتال موجب اختلال در حافظه فضایی شده اند (۶۰).

قابل ذکر است که استرس خفیف و یا گذرا برای نگه داشتن توانایی انعطاف پذیری و پاسخ مناسب در مغز لازم و گاه مفید است و سطوح خفیف تا متوسط استرس روانی ممکن است بلوغ مغز جنین را در فرد سالم افزایش دهد. مطالعات روی حیوانات نشان می دهد که نوع خفیف استرس روانی در طول دوران نوجوانی و اوایل بلوغ و یا تجویز مزمن کورتیکوسترون باعث افزایش رفتار های شبه افسردگی می شود. با این حال، استرس روانی بیش

از حد می تواند موجب بروز آسیب های بهداشتی از جمله تأخیر تکاملی و ناتوانی گردد. این نتیجه با مطالعات

فراوان بروی مدل های حیوانی که تحت تأثیر استرس جنینی قرار گرفته اند بدست آمده است که می تواند

شامل آسیب های عصبی مانند آسیب اعصاب کولینرژیک، از دست دادن سلول های عصبی، باشد (۶۷).

شواهد همچنین نشان داده که ارتباط معنی داری بین سطح استرس دوران جنینی و عملکرد مغز وجود دارد.

کودکانی که در رحم مادر در معرض سطوح بالایی از استرس قرار داشته اند دچار اختلالاتی مانند اضطراب و

افسردگی، همراه با پیامد های منفی رشد ذهنی، عملکرد پایین حافظه کاری مرتبط با بینایی، ناسازگاری

و مشکلات درونی، ضریب هوشی پایین تر و کاهش ضریب هوشی کلامی و توانایی های زبان می گردند (۶۸) .

در مطالعات روشن شده که تفاوت جنسی می تواند در رابطه بین استرس دوران جنینی و رشد سیستم عصبی

در مراحل اولیه عمر دخالت داشته باشد. گزارش شده که استرس جنینی باعث کاهش تعداد سلول های گلیال در

لایه هر می ناحیه هیپوکامپ و افزایش رفتار شبه افسردگی و کاهش حافظه در فرزندان ماده می شود (۶۹).

در فرزندان نر تحت استرس دوران جنینی در موش نشان داده شد که استرس حافظه فضایی و پاسخ محور

HPA را کم کرده، در حالیکه که در فرزندان ماده رفتار شبه افسردگی را افزایش و عملکرد حافظه فضایی را در

هیپوکامپ بهبود می بخشد (۷۰).

۱-۱-۴ مکانیسم اثر استرس بر یادگیری و حافظه فضایی :

۱ -تغییر در محور : HPA یکی از ویژگی های پاسخ به استرس فعال شدن محور HPA است که در نتیجه آن سطح پلاسمایی گلوکوکورتیکوئید (GCS)افزایش می یابد. مطالعات نشان داده اند که استرس جنینی می تواند نقطه تنظیم محور HPA را در فرزندان پس از تولد تحت تأثیر قرار دهد که در نتیجه باعث اختلال در سیستم های دفاعی بدن شده و حتی توانایی ترمیم سلول های آسیب دیده را نیز کاهش خواهد داد(۷۱)

مطالعات نشان داده که گلوکوکورتیکوئیدها برنامه نویسی بافتی را در دوران جنینی در سطوح سلولی و ملکولی تنظیم می کنند. این تنظیم از طریق تغییر در عملکرد بیان سلول با واسطه تغییر در بیان گیرنده، آنزیم ها ،کانال های یونی و حمل نقل اعمال می شود و گاه این تنظیم در رشد جنین تأثیرات منفی بجا می گذارد.رابطه خطی مثبتی از غلظت گلوکوکورتیکوئید ها بین جنین و مادر باردار وجود دارد. استرس بیش از حد در زنان باردار می تواند منجر به افزایش سطح گلوکوکورتیکوئید ها در جنین شود. جفت به عنوان یک سد، دارای آنزیم HSD2- β 11 است که می تواند گلوکوکورتیکوئید ها را متابولیزه و جنین را از غلظت بیش از حد آن حفظ نماید. با این حال، فعالیت این آنزیم نیز می تواند تا حد زیادی توسط استرس جنینی کاهش یابد. علاوه بر این در دراز مدت قرارگرفتن در معرض بالای گلوکوکورتیکوئیدها در قبل از تولد می تواند سیستم غدد درون ریز از جمله هورمون های رشد وهمینطور محورHPA را باز آرایی کند که این تغییرات به ایجاد بیماری های نوروپاتولوژیک در بزرگسالی کمک می کند(۲۹)

نشان داده شده است که گلوکوکورتیکوئیدها بر رشد و بلوغ سلول های مغز بویژه ناحیه هیپوکامپ، از طریق فعال شدن گیرنده های خود اثر می گذارند. استرس جنینی بر تکامل مورفولوژیکی هیپوکامپ با یک روش وابسته به شدت تأثیر می گذارد. استرس شدید و طولانی مدت باعث اختلال در مورفولوژی نورون های ناحیه هیپوکامپ از طریق گیرنده های گلوکوکورتیکوئید می شود. لذا همواره اثرات مختلف از تزریق طولانی مدت و کوتاه مدت کورتیکوسترون بر رفتار های شبه افسردگی در موش ها مشاهده شده است. روی هم رفته افزایش گلوکوکورتیکوئیدها توسط استرس جنینی موجب آشفتگی در تکامل طبیعی مغز از طریق مکانیسم های متعدد شده و به آسیب پذیری آن کمک می کند (۷۲)

۲- استرس موجب کاهش ذخیره مغزی در طول دوره تکامل و کاهش آن در طی روند پیری می شود. افراد عادی ذخیره مغزی خود را با بالا رفتن سن به تدریج و بدون تظاهرات بالینی از دست می دهند و افراد مبتلا به عوامل آسیب زای دوران جنینی خاص مانند انواع استرس ها از جمله میدان های مغناطیسی، بی حرکتی، آلودگی صوتی، استرس تراحم و... از میزان بالایی از کاهش ذخیره مغزی رنج می برند (۷۳). که این کاهش باعث آسیب پذیری بیشتری شده و راه را برای اختلالات یادگیری و حافظه فضایی در مراحل بعدی زندگی هموار می کند. در مورد اثرات مضر استرس های دوران جنینی بر یادگیری و حافظه فضایی توافق نظر یکسانی وجود دارند، زیرا هنوز معیار های ارزیابی یکپارچه و به رسمیت شناخته شده ای از استرس دوران

جنینی وجود ندارد. متنوع بودن انواع استرس، استرس های دوران جنینی با درجات و دوره های متفاوت، اثرات متفاوتی را بر سیستم عصبی فرزندان بجا می گذارند که مقایسه نتایج آن را دشوار می کند.

۴-۲. نتیجه گیری

بطور خلاصه اینکه، در مطالعه حاضر مشخص گردید استرس دوران جنینی احتمالا از طریق تاثیر منفی بر روند ساختمان و عملکرد سیستم عصبی بویژه مراکز شناختی مغز مانند هیپوکامپ و آمیگدال می تواند اثر منفی داشته و موجب کاهش بویژه یادگیری و حافظه فضایی در موش های صحرایی می گردد و احتمالا ممکن است همین اثر هم در مورد انسان داشته باشد که نیاز به انجام مطالعات بیشتر در این زمینه است. امروزه استرس در درجات مختلف دامن گیر بشر بوده و رهایی از آن امکان پذیر نمی باشد، لذا استفاده از روش های تعدیل استرس و نیز حضور کمتر در شرایط مضر، مانند میدان های الکترومغناطیسی و نیز رعایت بیشتر بهداشت جسمی و روحی به خصوص در مراحل حساس زندگی نظیر دوران بارداری توصیه می شود.

۵-۱. پیشنهادات

۱. مطالعات بیشتر در جهت شناخت مکانیسم زیربنایی برای پاسخ به استرس در دوران جنینی بر یادگیری و

حافظه فضایی صورت گیرد.

۲. مطالعات بیشتر در جهت بررسی پاسخ به استرس در دوران جنینی بر یادگیری در دوران کهنسالی در مدل

حیوانی صورت گیرد.

۳. مطالعات بیشتر در جهت بررسی نحوه اثر استرس در دوران جنینی در چندین نسل متوالی با بهره گیری از

مدل حیوانی صورت گیرد.

فصل ششم

منابع

- 1- Morgan D, Donled F. Stress hormones: good and bad. *Neurobiol Dis* 2005; 7:540-42.
- 2- Sherwood L. Human physiology from cells to systems. 4th. California: Brooks Cole; 2001; p: 164.
- 3- Lupien JS. A role for brain stress systems in addiction. *Neuron* 2008; 59: 11-34.
- 4- Brake WG, Zhang TY, Diorio J, Meaney MJ, Gratton A. Influence of early postnatal rearing conditions on mesocorticolimbic dopamine and behavioural responses to psychostimulants and stressors in adult rats. *Eur J Neurosci* 2004; 19: 1863-1874.
- 5- Carrasco GA, Van de Kar LD. Neuroendocrine pharmacology of stress. *Eur J Pharmacol* 2003; 463: 235-272.
- 6- Anderson S, Day TA. Effects of chronic oestrogen replacement on stress-induced activation of hypothalamic- pituitary-adrenal axis control pathways. *J Neuroendocrinol* 2001; 12:784-94.
- 7- Kapoor A, Dunn E, Kostaki A, et al. Fetal programming of hypothalamo-pituitary-adrenal function: prenatal stress and glucocorticoids. *J Physiol* .2006; 527(1):31-34.
- 8- Koob GF. A role for brain stress systems in addiction. *Neuron*. 2008; 59: 11-34.
- 9- De La Baume S, Patey G, Marcais H, Protais P, Costentin J, Schwartz JC. Changes in dopamine receptors in mouse striatum following morphine treatments. *Life Sci* .1979; 24: 2333-2342.
- 10- McEwen B.S, P.J. Gianaros. Central role of the brain in stress and adaptation: links to socioeconomic status, health, and disease. *Annals of the New York Academy of sciences*, 2010. 1186(1):190-222.
- 11- McEwen B.S., et al. The neurobiological properties of tianeptine (Stablon): from monoamine hypothesis to glutamatergic modulation. *Molecular psychiatry*, 2009. 15(3):p.237-249.
- 12- Manns JR, Eichenbaum H. Evolution of declarative memory. *Hippocampus*, 2006. 16(9):795-808.
- 13- Aderssen A, Gauguin B, Gudiksen L, Jager AK. Screening of plants used in Danish folk medicine to treat memory dysfunction for acetylcholinesterase inhibitory activity. *J Ethnopharmacol* 2006; 104:418-22.
- 14- Warner-Schmidt JL, Duman RS. Hippocampal neurogenesis: opposing effect of stress and antidepressant. *Hippocampus*, 2006; 16(3):239-249.
- 15- Schmidt H.D, R.S. Duman, The role of neurotrophic in adult hippocampal neurogenesis, antidepressant treatments and animal model of depressive-like behavior. *Behavioural pharmacology*. 2007. 18 (5-6):392-418.
- 16- Zhang Y, et al. Effect of phenytoin on morphology and structure of hippocampal CA3 pyramidal neurons of rats in chronic stress. *Acta pharmacologica sinica*. 2003; 24(5):403-407.

- 17- Alzobi K, et al. Adverse effect of combination of chronic psychosocial stress and high fat diet on hippocampus-dependent memory in rats. *Behavioural brain research*. 2009; 204 (1):117-123.
- 18- McEwen B.S. physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain. *Physiological reviews*. 2007; 87 (3):873-904.
- 19- Nicola Wheelan, Christopher J. Kenyon, Anjanette P. Harris, Carolyn Cairns, Emad Al Dujaili, Jonathan R. Seckl, Joyce L.W. Yau. Midlife stress alters memory and mood-related behaviors in old age: Role of locally activated glucocorticoids. *Psychoneuroendocrinology*. 2018 Mar; 89: 13–22
- 20- Pitkanen A, et al. Reciprocal connections between the amygdala and the hippocampal formation, perirhinal cortex, and postrhinal cortex in rat: A review. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2000; 911(1):369-391.
- 21- Sah A, C Schmuckermair, S B Sartori, S Gaburro, M Kandasamy, R Irschick, et al. Anxiety- rather than depression-like behavior is associated with adult neurogenesis in a female mouse model of higher trait anxiety- and comorbid depression-like behavior. *Translational Psychiatry* 2, e171 (2012)
- 22- McEwen B.S. Mood disorders and allostatic load. *Biological psychiatry*, 2003; 54(3):p. 200-207.
- 23- Holmes ACL, Wellman K. Stress-induced prefrontal reorganization and executive dysfunction in rodents. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2009; 33 (6):773-783.
- 24- Cerqueira JJ, et al. The prefrontal cortex as a key target of the maladaptive response to stress. *The Journal of Neuroscience*. 2007; 27(11):2781-2787.
- 25- Lesheli A, Nguyen P. Pregnancy stress and neurosteroid building in brain embryo. *JPET* 2007; 325:313-18.
- 26- Brow, ES, Woolston DJ, Frol A, Bobadilla L, Khan DA, Hanczyc M, et al. Hippocampal ,Spectroscopy, cognition, and mood in patients receiving corticosteroid therapy. *Biol Psychiatry* 2004; 55:538-45.
- 27- Aderssen A, Gauguin B, Gudiksen L, Jager AK. Screening of plants used in Danish folk medicine to treat memory dysfunction for acetylcholinesterase inhibitory activity. *J Ethnopharmacol*. 2006; 104:418-22.
- 28- Markham JA, Koenig JJ. Prenatal stress: role in psychotic and depressive diseases. 2011; 214 (1):89-106.
- 29- Ryoko Hiroi, David L. Carbone, Damian G. Zuloaga, Heather A. Bimonte-Nelson, Robert J. Handa. Sex-dependent programming effects of prenatal glucocorticoid treatment on the developing serotonin system and stress-related behaviors in adulthood. *Neuroscience*. Author manuscript; available in PMC 2017 Apr 21. Published in final edited form as: *Neuroscience*. 2016 Apr 21; 320: 43–56.
- 30- Habib KE, Gold PW, Chrousos GP. Neuroendocrinology of stress. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2001; 30:695-728.

- 31- Ramazani M, Ameli H, Hakimi Gilani V, Bahadoran H, Sahraei H. Reduction of cell size in amygdaloid complex of the Wistar rat embryos after oral morphine consumption. *Physiol Pharmacol* 2010; 14: 181-190. (Persian).
- 32- Pawluski JL, Valença A, Santos AI, Costa-Nunes JP, Steinbusch HW, Strekalova T. Pregnancy or stress decrease complexity of CA3 pyramidal neurons in the hippocampus of adult female rats. *Neuroscience* 2012; 227:201-10.
- 33- Binder DK, Scharfman H.E. Brain-derived neurotrophic factor. *Growth factors*, 2004; 22(3):123-131.
- 34- Fuchikami M, et al. Single immobilization stress differentially alters the expression profile of transcripts of the brain –derived neurotropic factor (BDNF) gene and histone acetylation at its promoters in the rat hippocampus. *The International Journal of Neuropsychopharmacology*. 2009; 12(01):73-82.
- 35- Kawamura T, et al. Prenatal stress suppresses cell proliferation in the early developing brain. *Neuroreport*. 2006; 17(14):1515-1518.
- 36- Graham C, Cook MR, Cohen HD, Riffle DW, Hoffman S, Gerkovich MM. Human exposure to 60Hz magnetic fields: neurophysiological effects. *Int J Psychophysiol*. 1999 Aug; 33(2): 169-75.
- 37- Hartikka H, Heinavaara S, Mantyla R, Kahara V, Kurtio P, Auvinen A. Mobile phone use and location of glioma: a case-case analysis. *Bioelectromagnetics*. 2009 Apr; 30(3): 176-82.
- 38- McKay BE, Persinger MA, Koren SA. Exposure to a theta-burst patterned magnetic field impairs memory acquisition and consolidation for contextual but not discrete conditioned fear in rats. *Neurosci Lett*. 2000 Oct; 292(2): 99-102.
- 39- Dimberg Y. Neurochemical effects of a 20 kHz magnetic field on the central nervous system in prenatally exposed mice. *Bioelectromagnetics*. 1995; 16(4): 263-7.
- 40- McKay BE, St-Pierre LS, Persinger MA. Radial maze proficiency of adult Wistar rats given prenatal complex magnetic field treatments. *Dev Psychobiol*. 2003 Jan; 42(1): 1-8.
- 41- Garcia AM, Sisternas A, Hoyos SP. Occupational exposure to extremely low frequency electric and magnetic field and Alzheimers, disease: a meta-analysis. *Int.J.Epidemiol*. 2008; 37:329-340.
- 42- Knoepfler PS. Stem cells on the brain .*Arch.Neurol* 2011; 65:311-315.
- 43- Tabassum I, Siddiqui ZN, Rizvi SJ. Effects of *Ocimum sanctum* and *Camellia sinensis* on stress-induced anxiety and depression in male albino *Rattus norvegicus*. *Indian J Pharmacol*. 2010 Oct; 42(5):283-8.
- 44- Davydov VV, Shvets VN. Different changes in the cytosole creatine kinase isoenzymes from heart of adult and old rats during stress. *Exp Gerontol*. 1999 Nov; 34(7):885-8.

- 45- Fusao U, Kazubit A, Kazue S. [Influence of quercetin on oxidative stress in mouse eye ball]. *Journal of the Eye*. 2001; 18(4):551-6. [Article in Japanese]
- 46- Weissman BA, Sottas CM, Zhou P, Iadecola C, Hardy MP. Testosterone production in mice lacking inducible nitricoxide synthase expression is sensitive to restraint stress. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2007; 292(2): 615- 20.
- 47- Liu RJ, Aghajanian GK. Stress blunts serotonin- and hypocretin-evoked EPSCs in prefrontal cortex: Role of corticosterone-mediated apical dendritic atrophy. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008; 105(1):359-64.
- 48- Yld A, Hayirli A, Okumus ZKaynar, Ksa F. Physiological profile of juvenile rats: effects of cage size and cage density. 2007 Apr; 36(4): 47.
- 49- Miyashita T, Yamaguchi T, Motoyama K, Unno K. Social stress increases biopyrrins, oxidative metabolites of bilirubin, in mouse urine. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 349:775-80.
- 50- Winkler, István, and Nelson Cowan. "From sensory to long-term memory: evidence from auditory memory reactivation studies." *Experimental psychology* (2005)
- 51- Winkler, István, and Nelson Cowan. "From sensory to long-term memory: evidence from auditory memory reactivation studies." *Experimental psychology* (2005)
- 52- Johnson E, Adamo-Villani N. "A Study of the Effects of Immersion on Short-term Spatial Memory". *Engineering and Technology*. 2010; 71: 582–587.
- 53- Gagin R, Cohen E, Shavit Y. Prenatal exposure to morphine alters analgesic responses and preference for sweet solutions in adult rats. *Pharmacol Biochem Behav*. 1996; 55(4):629-34.
- 54- Schneider LS. Treatment of Alzheimers disease with cholinesterase inhibitors. *Clin Geriatr. Med*. 2001; 17:337-339.
- 55- Sadaghiani MM, Saboory E. prenatal stress potentiates pilocarpine-induced epileptic behaviors in infant rats both time and sex dependently. *Epilepsy Behav*. 2010 Jul; 18(3):166-70.
- 56- Rangon CM, Fortes S, Lelièvre V, Leroux P, Plaisant F, Joubert C, Lanfumey L, Cohen-Salmon C, Gressens P. Chronic mild stress during gestation worsens neonatal brain lesions in mice. *J Neurosci*. 2007 Jul 11; 27(28):7532-40.
- 57- Heshmatian B, Milani S, Sabouri E. Effect of stress during fetal period reduced seizure activity in neonatal rats. 1389; 1 (45):81-86.
- 58- Pivina SG, Shamolina TS, Akulova VK, Ordian NE. [Sensitiveness to social stress in female rats with alteration of the pituitary-adrenal axis stress reactivity. *Russ Fiziol Zh Im I M Sechenova*. 2007 Nov; 93(11):1319-25.
- 59- Jafari Z1,2, Mehla J1, Kolb BE3, Mohajerani MH4. Prenatal noise stress impairs HPA axis and cognitive performance in mice. 2017 Sep 5; 7(1):10560.

- 60-Suzuki A1, Iinuma M, Hayashi S, Sato Y, Azuma K, Kubo KY. Maternal chewing during prenatal stress ameliorates stress-induced hypomyelination, synaptic alterations, and learning impairment in mouse offspring. 2016 Nov 15; 1651:36-43
- 61-Weinstock M1. Prenatal stressors in rodents: Effects on behavior. 2016 Aug 29; 6:3-13
- 62- HR Sadeghipour, M Ghasemi, H Sadeghipour, K Riazi, M Soufiabadi, Nitric oxide involvement in estrous cycle-dependent changes of the behavioral responses of female rats in the elevated plus-maze test. Behavioural brain research 178 (1), 10-17.
- 63- Lemaire V, Koehl M, Le Moal M, Abrous DN. Prenatal stress produces learning deficits associated with an inhibition of neurogenesis in the hippocampus. Proc Natl Acad Sci USA 2000; 97(20):11032-7.
- 64- Sandi C, Woodson JC, Haynes VF, Park CR, Touyarot K, Lopez-Fernandez MA, et al. Acute stress-induced impairment of spatial memory is associated with decreased expression of neural cell adhesion molecule in the hippocampus and prefrontal cortex. Biol Psychiatry 2005; 57(8): 856-6410.
- 65- Son GH, Geum D, Chung S, Kim EJ, Jo J-H, Kim C-M, et al. Maternal stress produces learning deficits associated with impairment of NMDA receptor-mediated synaptic plasticity. J Neurosci 2006; 26(12): 3309-18.
- 66- Lee EJ1, Son GH, Chung S, Lee S, Kim J, Choi S, Kim K. Impairment of fear memory consolidation in maternally stressed male mouse offspring: evidence for nongenomic glucocorticoid action on the amygdala.J Neurosci. 2011 May 11; 31(19):7131-40.
- 67- Rothman SM, Herdener N, Camandola S, Texel SJ, Mughal MR, Cong WN, et al. 3xTgAD mice exhibit altered behavior and elevated A β after chronic mild social stress. Neurobiol Aging 2012; 33:830.e1-12.
- 68- Van Os J, Selten JP. Prenatal exposure to maternal stress and subsequent schizophrenia. The May 1940 invasion of The Netherlands. Br J Psychiatry 1998; 172:324-326.
- 69- Marco EM, Valero M, de la Serna O, Aisa B, Borcel E, Ramirez MJ, et al. Maternal deprivation effects on brain plasticity and recognition memory in adolescent male and female rats. Neuropharmacology 2013; 68:223-231.
- 70- Sierksma AS, Prickaerts J, Chouliaras L, Rostamian S, Delbroek L, Rutten BP, et al. Behavioral and neurobiological effects of prenatal stress exposure in male and female APPswe/PS1dE9 mice. Neurobiol Aging 2013; 34:319-337.
- 71- Kolber BJ, Boyle MP, Wiczorek L, Kelley CL, Onwuzurike CC, Nettles SA, et al. Transient early-life forebrain corticotropin-releasing hormone elevation causes long-lasting anxiogenic and despair-like changes in mic.J Neurosci 2010; 30: 2571-2581.

- 72- Musazzi L, Racagni G, Popoli M. Stress, glucocorticoids and glutamate release: Effects of antidepressant drugs. *Neurochem Int* 2011; 59:138-149.
- 73- Dan Huang, Zhiyou Cai, Ming Xiao. Alzheimer's disease and Prenatal Maternal Stress. *Aging and Neurodegeneration*, Vol. 2 (1): 1-5, January 2014.



Qazvin University of Medical Sciences & Health Services

Medical School

Thesis for obtaining a doctoral degree

Title:

**The effect of Prnatal Combined stress on spatial learning and memory in male
rats**

Supervisor:

Dr. Mohammad Sofiabadi

Consultant professors:

Dr. Hashem Haghdest Yazdi

Writing:

Yagane Ghaemi

April, 2019

The effect of Prenatal Combined stress on spatial learning and memory in male rats

ABSTRACT

Background and Objectives: Multiple evidence suggests that exposing to different environmental stresses during embryonic development is effective on the physiological behaviors at puberty and afterwards. In this experimental study, the effect of combined stress including electromagnetic field, social stress and immobility during embryonic period on the Spatial Learning and Memory of adult rats was investigated.

Materials and Methods: In this study, 2 groups of Wistar pregnant rats were included: control group that had normal pregnancy and treatment group that were received 3 different stresses (from eighth to eighteenth day of pregnancy) as follows: Exposure to electromagnetic waves (4 hours with an intensity of 0.5 mT, 50 Hz), the immobilization stress (half an hour, twice a day by placing on restrainer), and social stress by kept 6 rat in a small cage). 2 months after the birth, the effect of combined prenatal stress on the spatial of offspring was by using moriss water Maze apparatus.

Results: The datas showed that the mean time of reaching the platform in the first and second days of the test increased significantly in newborns that mothers exposed to combined stress in pregnancy period compared to the control group ($p < 0.01$) ($P < 0.05$). Also, combined stress reduced the percentage of time spent in the target area and the percentage of distance traveled in the target quadrant, that the stress-induced rats had a shorter duration of time than the control group in the target area, wich this change was not significant among the groups.

Conclusion: According to these findings, embryonic stress disturbs spatial learning but does not affect the spatial memory of rats and may possibly have the same effect on humans, which requires further studies in this field.

Keywords: Combined Stress, Prenatal periode, Spatial Learning and Memory, Rat.